

C HDL Inmuno FS*

Reactivo para la determinación cuantitativa *In Vitro* del colesterol HDL en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase
1 3521 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL
1 3521 99 10 026	R1 5 x 80 mL + R2 1 x 100 mL
1 3521 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL
1 3521 99 10 704	R1 8 x 50 mL + R2 8 x 12,5 mL
1 3521 99 10 917	R1 8 x 60 mL + R2 8 x 15 mL
1 3521 99 10 930	R1 4 x 20 mL + R2 2 x 10 mL

Resumen [1,2]

El colesterol es un componente de la membrana celular y un precursor de las hormonas esteroides y de los ácidos biliares, sintetizado por las células del cuerpo y que se absorbe con los alimentos. El colesterol se transporta en el plasma mediante las lipoproteínas, los complejos formados por lípidos y las apolipoproteínas. Existen cuatro clases de lipoproteínas: las lipoproteínas de alta densidad (*high density lipoproteins*: HDL), las lipoproteínas de baja densidad (*low density lipoproteins*: HDL), las lipoproteínas de muy baja densidad (*very low density lipoproteins*: VLDL) y los quilomicrones. Mientras que el LDL participa en el transporte del colesterol a las células periféricas, el HDL es responsable de eliminar el colesterol de las células. Estos cuatro tipos de lipoproteínas indican diferentes asociaciones con la aterosclerosis coronaria: el colesterol LDL contribuye a la formación de placas ateroscleróticas en la túnica íntima arterial y se correlaciona estrechamente con las enfermedades coronarias (EC) y, por tanto, con la mortalidad a ellas asociada. Aunque los valores de colesterol total se encuentran en el rango de referencia, las concentraciones elevadas de colesterol LDL indican un riesgo elevado. El colesterol HDL tiene una función de protección, ya que dificulta la formación de placas. Existe una relación indirectamente proporcional en relación con la prevalencia de enfermedades coronarias. Por tanto, el colesterol HDL supone un factor de riesgo independiente. La determinación del colesterol total se emplea en la detección, mientras que para establecer de forma óptima el riesgo, es preciso realizar además la determinación del colesterol HDL y LDL.

Se ha demostrado en varios estudios clínicos realizados en los últimos años en los que se analizó la dieta, la modificación de los hábitos de vida y/o diferentes medicamentos (especialmente los inhibidores de la reductasa HMG CoA [estatina]) que la disminución del colesterol total y el colesterol LDL reduce drásticamente el riesgo de enfermedades coronarias.

Método

La determinación del colesterol HDL se realizaba antes con métodos de precipitación que requerían mucho tiempo [3]. C HDL Inmuno FS es un método homogéneo para la determinación del colesterol HDL sin centrifugación. Se utilizan anticuerpos contra lipoproteínas humanas para la formación de complejos antígeno-anticuerpo con LDL, VLDL y quilomicrones de forma que sólo se determina selectivamente el colesterol HDL mediante una medición enzimática del colesterol [4].

Principio

LDL, VLDL, quilomicrones $\xrightarrow{\text{Anticuerpos anti-}\beta\text{-lipoproteína humana}}$
Complejos antígeno-anticuerpo + HDL

Colesterol HDL + H₂O + O₂ $\xrightarrow{\text{CHE y CHO}}$
Colect-4-en-3-ona + ácidos grasos + H₂O₂

H₂O₂ + F-DAOS + 4-aminoantipirina $\xrightarrow{\text{POD}}$ complejo azul + H₂O

Reactivos

Componentes y concentraciones

R1: Solución amortiguadora Good pH 7,0	25 mmol/L
4-aminoantipirina	0,75 mmol/L
Peroxidasa (POD)	2000 U/L
Ascorbato oxidasa	2250 U/L
Anticuerpos (oveja) anti- β -lipoproteína humana	
R2: Solución amortiguadora Good pH 7,0	30 mmol/L
Colesterol esterasa (CHE)	4000 U/L
Colesterol oxidasa (CHO)	20000 U/L
N-etilo-N-(2-hidroxi-3-sulfopropilo)-3,5-dimetoxi-4-fluoroanilina, sal de sodio (F-DAOS)	0,8 mmol/L

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 2 a 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. ¡No se deben congelar los reactivos y protegerlos de la luz!

Nota: Debe mencionarse, que la medición no se ve influenciada por cambios ocasionales siempre que la absorbancia de los reactivos premezclados (4 porciones R1 + 1 porción R2) sea < 0,03 a 600 - 700 nm.

Estabilidad en el instrumento: 4 semanas de 2 a 8 °C

Advertencias y medidas de precaución

- Reactivo 1: Atención. Contiene: Mezcla de 5-cloro-2- metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1). H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 Evitar su liberación al medio ambiente. P280 Llevar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos. P302+P352 En caso de contacto con la piel: Lavar con agua/ jabón abundantes. P333+P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
- Los reactivos contienen material de origen animal. Tratar el producto como potencialmente infeccioso según las precauciones universales y la buena práctica de laboratorio.
- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [8].
- La N-acetilcisteína (NAC), el acetaminofén y la medicación metamizol conducen a resultados falsamente bajos en muestras de pacientes.
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para el uso de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- ¡Únicamente para el empleo profesional!

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Preparación de los reactivos

Los reactivos están listos para usar.

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Muestras

Suero, plasma heparina [5].

Estabilidad: 2 días de 20 a 25 °C
7 días de 4 a 8 °C
3 meses a -20 °C

Desechar las muestras contaminadas. Congelar sólo una vez.

Esquema de la prueba para equipos automáticos de análisis

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	600/700 nm (medición bicromática)
Paso óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Método de medida	Respecto blanco de reactivo

	Blanco	Muestra o calibrador
Muestra o calibrador	-	2,4 µL
Reactivo 1	240 µL	240 µL
Mezclar, incubar 5 min. a 37 °C, leer la absorbancia A1 y, a continuación, añadir:		
Reactivo 2	60 µL	60 µL
Mezclar, incubar 5 minutos a 37 °C y leer la absorbancia A2.		

$\Delta A = (A2 - A1)$ muestra o calibrador

Cálculo

Con calibrador

$$C \text{ HDL } [\text{mg/dL}] = \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ calibrador}} \times \text{conc. calib. } [\text{mg/dL}]$$

Factor de conversión

$$C \text{ HDL } [\text{mg/dL}] \times 0,02586 = C \text{ HDL } [\text{mmol/L}]$$

Calibradores y controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automáticos debe utilizarse el calibrador DiaSys TruCal Lípido. Los valores de calibración de TruCal Lípido son trazables al material de referencia NIST-SRM®-1951 Nivel 2. Para el control de calidad interno debe analizarse un control DiaSys TruLab L. Cada laboratorio debería establecer valores fuera del intervalo preestablecido.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruCal Lípido	1 3570 99 10 045	3 x 2 mL
TruLab L Nivel 1	5 9020 99 10 065	3 x 3 mL
TruLab L Nivel 2	5 9030 99 10 065	3 x 3 mL

Características

Rango de medida

El test es adecuado para medir concentraciones de colesterol C HDL de 1 – 180 mg/dL (0,03 – 4,7 mmol/L). Si se sobrepasan estos valores, se recomienda diluir las muestras con solución de NaCl (9 g/L) en una proporción 1 + 2 y multiplicar por 3 el resultado.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con ácido ascórbico en cantidades de hasta 50 mg/dL, con bilirrubina en cantidades de hasta 40 mg/dL, con hemoglobina en cantidades de hasta 500 mg/dL, y con lipidemia de hasta 1200 mg/dL de triglicéridos. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [6].

Sensibilidad del test/límite de prueba

El límite inferior de prueba es de 1 mg/dL (0,03 mmol/L).

Precisión (n = 20)

En la serie	Valor medio (VM) [mg/dL]	Desviación estándar [mg/dL]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	20,4	0,17	0,81
Muestra 2	56,0	0,41	0,73
Muestra 3	125	1,03	0,82

De un día a otro	Valor medio (VM) [mg/dL]	Desviación estándar [mg/dL]	Coefficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	44,0	0,83	1,88

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys C HDL Inmuno FS (y) con un test comercialmente disponible (x) se obtuvieron los siguientes resultados con 100 muestras:

$$y = 1,05 x + 0,571 \text{ mg/dL}; r = 0,995$$

Valores de referencia [7]

Directivas del 'National Cholesterol Education Program (NCEP) = Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol de los Estados Unidos (NCEP):

Colesterol HDL bajo (factor de riesgo mayor para EC):
< 40 mg/dL (< 1,04 mmol/L)

Colesterol HDL elevado (factor de riesgo "negativo" para EC):
≥ 60 mg/dL (≥ 1,55 mmol/L)

Varios factores contribuyen a los bajos niveles de colesterol HDL: por ejemplo, el sobrepeso y la obesidad, el tabaquismo, la inactividad física, los medicamentos como los betabloqueantes y los medicamentos progestacionales, los factores genéticos.

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

- Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. En: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W.B Saunders Company; 1999. pp. 809-61.
- Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998; 19: 1434-503.
- Wiebe DA, Warnick GR. Measurement of high-density lipoprotein cholesterol. En: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997: pp. 127-44.
- Nauck M, Maerz W, Wieland H. New immunoseparation-based homogenous assay for HDL-cholesterol compared with three homogenous and two heterogeneous methods for HDL-cholesterol. Clin Chem 1998; 44: 1443-51.
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1ª ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 22-3.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication No. 02-5215; September 2002.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9):1240-1243.

Fabricado por



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania