

Colesterol HDL. Directo. Enzimático colorimétrico Ref.: HDL-010/ HDL-110
 Determinación cuantitativa de colesterol HDL /HDL-010B / HDL-010S
 Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico
 Conservar a 2-8°C 1x60+1x20 mL/ 3x125+1x125 mL/
 1x750mL + 4x250mL /1x30 + 1x10 mL
 CAL: 1x1 mL

COLESTEROL HDL

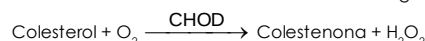
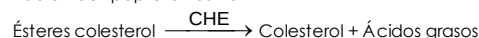


PRINCIPIO DEL MÉTODO

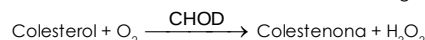
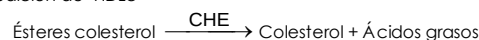
Determinación directa del HDLc (colesterol de lipoproteínas de alta densidad) sin necesidad de pre-tratamiento o centrifugado de la muestra^{3,5}.

La determinación se realiza en dos pasos:

– 1º Eliminación de lipoproteínas no-HDL



– 2º Medición de HDLc



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de HDLc presente en la muestra ensayada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las partículas de HDL son lipoproteínas que transportan el colesterol a las células. El colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad a menudo se denomina "colesterol bueno", ya que niveles elevados están relacionados con un menor riesgo cardiovascular. Un nivel bajo de colesterol HDL es considerado uno de los principales factores de riesgo cardiovascular y enfermedades de las arterias coronarias^{1,2,4}. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	N,N-bis (2-hidroxietil)-2-aminoetanosulfónico ácido pH 6.6	100 mM
	N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina (HDAOS)	0.7 mM
	Colesterol esterasa	≥800 U/L
	Colesterol oxidasa	≥ 500U/L
	Catalasa	≥300 KU/L
R 2	Ascórbico oxidasa	≥3000 U/L
	N,N-bis (2-hidroxietil)-2-aminoetanosulfónico ácido pH 7,0	1,1 mol/L
	4 – Aminoantipirina (4-AA)	100 mM
	Peroxidasa	≥ 3500 U/L
HDLc/ LDLc CAL	Calibrador. Suero humano liofilizado.	

PRECAUCIONES

HDLc/ LDLc CAL

Los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

PREPARACIÓN

– R 1 y R 2: Listos para su uso.

– **HDLc/ LDLc CAL:** Reconstituir el contenido de un vial con 1 mL de agua destilada. Tapar el vial y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación. No congelar los reactivos.

– **HDLc/ LDLc CAL:** Una vez reconstituido es estable 30 horas a 20-25°C, 2 semanas a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

– Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

– Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 600 nm.

– Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.

– Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado o plasma EDTA.

El suero es estable 6 días a 2-8°C y 1 año cuando es conservada a -70°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 Longitud de onda: 600-700 nm
 Cubeta: 1 cm paso de luz
 Temperatura: 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Calibrador	Muestra
R 1 (μL)	300	300	300
Calibrador (μL)	--	3	--
Muestra (μL)	--	--	3

- Mezclar e incubar 5 min a 37°C y leer la absorbancia (A₁) del calibrador y la muestra.

- Añadir:

	Blanco	Calibrador	Muestra
R 2 (μL)	100	100	100

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C y leer la absorbancia (A₂) frente al Blanco de reactivo.

CÁLCULOS

$$\frac{(\Delta A) \text{ Muestra} - (\Delta A) \text{ Blanco}}{(\Delta A) \text{ Calibrador} - (\Delta A) \text{ Blanco}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de HDL}$$

colesterol en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 0,0259 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

Control H Normal y Patológico.

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

	Hombres	Mujeres
Riesgo menor	> 50 mg/dL	> 60 mg/dL
Riesgo normal	35 – 50 mg/dL	45 – 60 mg/dL
Riesgo elevado	< 35 mg/dL	< 45 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 5.0mg/dL hasta el límite de linealidad de 151 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	28.0	76.1	27.5	75.3
SD	0.25	0.81	1.26	2.04
CV (%)	0.89	1.06	4.60	2.71

Sensibilidad analítica: 1mg/dL = 0,001399 (A).

Exactitud: Los reactivos BSM (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,938.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,9825x – 1,41606.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con Bilirrubina hasta 30 mg/dL, hemoglobina hasta 500 mg/dL factores reumatoideos hasta 1000 UI/mL o lipemia hasta 1200 mg/dL.

Muestras lipémicas con concentración de triglicéridos mayor a 1200 mg/dL, se deben diluir 1/10 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

NOTAS

El reactivo 2 presenta coloración amarillenta debido a la peroxidasa que contiene, lo cual no afecta en absoluto la funcionalidad del reactivo.

BSM dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Triglyceride, High Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. Washington D.C. Feb 26-28, 1992.
- Izawa S., Okada M., Matsui H., and Horita Y. J. Medicine and Pharmaceutical Sci., 1385 - 1388, 37 (1997).
- Shih W.J, Bachorik P.S, Haga JA, Myers GL, Stein EA; Clinical Chemistry, 2000; 46:3351 – 364
- Third Report of the National Cholesterol Education Programme (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA Publication, Vol 285, No. 19, P2486 - 2497; 2001.
- Jacobs, D. et al. In Laboratory and Test Handbook; Jacobs, D.S; Kasten, B.L., De Mott, W.R., Wolfson, W.L., Eds; Lexi - Comp Inc: Hudson (Cleveland), 1990; P. 219.



HDL Cholesterol. Direct. Enzymatic colorimetric
Quantitative Determination of HDL Cholesterol
Only for *in vitro* use in clinical laboratory
Store at 2-8°C

Ref.: HDL-010/ HDL-110
HDL-010B / HDL-010S
1x60+1x20 mL/ 3x125+1x125 mL
1x750mL + 1x250 mL / 1x30+1x10 mL
CAL: 1x 1 mL

HDL CHOLESTEROL



PRINCIPLE OF THE METHOD

Directly determination of serum HDLc (high-density lipoprotein cholesterol) levels without the need for any pre-treatment or centrifugation of the sample^{3,5}.

The assay takes place in two steps.

– 1° Elimination of lipoprotein non-HDL

Cholesterol esters $\xrightarrow{\text{CHE}}$ Cholesterol + Fatty acids

Cholesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{CHOD}}$ Cholestenone + H₂O₂

2 H₂O₂ $\xrightarrow{\text{Catalase}}$ 2 H₂O + O₂

– 2° Measurement of HDLc

Cholesterol esters $\xrightarrow{\text{CHE}}$ Cholesterol + Fatty acids

Cholesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{CHOD}}$ Cholestenone + H₂O₂

2 H₂O₂ + HDAOS + 4-AA $\xrightarrow{\text{POD}}$ Quinone Pigment + 4H₂O

The intensity of the color formed is proportional to the HDLc concentration in the sample.

CLINICAL SIGNIFICANCE

HDL particles serve to transport lipoproteins in the blood-stream.

HDL is known as "good cholesterol" because high levels are thought to lower the risk of heart disease and coronary artery disease.

A low HDL cholesterol levels, is considered a greater heart disease risk^{1,2,4}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	N,N-bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulphonic acid pH 6,6	100 mM
	N-(2-hydroxy-3-sulfofpropyl)-3,5-dimethoxyaniline (HDAOS)	0.7 mM
	Cholesterol Esterase	≥ 800 U/L
	Cholesterol oxidase	≥ 500 U/L
	Catalase	≥ 8300 KU/L
R 2	Ascorbic oxidase	≥ 3000 U/L
	N,N-bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulphonic acid pH 7,0	1,1 mol/L
	4 – Aminoantipyrine (4-AA)	100 mM
	Peroxidase	≥ 30500 U/L
HDLc/ LDLc CAL		
Calibrator: Lyophilized human serum.		

PRECAUTIONS

HDLc/ LDLc CAL

Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However handle cautiously as potentially infectious.

PREPARATION

– R 1 and R 2: Are ready to use.

– HDLc/ LDLc CAL: Dissolve the contents with 1 mL of distilled water. Cap vial and mix gently to dissolve contents.

STORAGE AND STABILITY (Note 1)

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not freeze the reagents.

– HDLc/ LDLc CAL: Once reconstitute 30 hours at 20-25°C, 2 weeks at 2-8°C or 3 months at -20°C.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

– Presence of particles and turbidity.

ADDITIONAL EQUIPMENT

– Spectrophotometer or colorimeter measuring at 600 nm.

– Matched cuvettes 1,0 cm light path.

– General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum, heparinized plasma or EDTA plasma.

If any samples show precipitates, centrifuge before using.

Serum stable for 6 days at 2-8°C and 1 year when stored at -70°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 600 -700 nm
Cuvette: 1 cm light path
Temperature: 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Calibrator	Sample
R 1 (μL)	300	300	300
Calibrator (μL)	--	3	--
Sample (μL)	--	--	3

- Mix and incubate for 5 min at 37°C and read the absorbance (A₁) of the samples and calibrator.

- Add:

	Blank	Calibrator	Sample
R 2 (μL)	100	100	100

- Mix and incubate for 5 min. at 37°C and read the absorbance (A₂) of the samples and calibrator, against the Blank.

CALCULATIONS

$\frac{(\Delta A) \text{ Sample} - (\Delta A) \text{ Blank}}{(\Delta A) \text{ Calibrator} - (\Delta A) \text{ Blank}} \times \text{Calibrator conc.} = \text{mg/dL of HDL-c in the sample}$

sample

Conversion factor: mg/dL x 0.0259= mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: Control H Normal and Pathologic.

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

	Men	Women
Low risk	> 50 mg/dL	> 60 mg/dL
Normal risk	35 – 50 mg/dL	45 – 60 mg/dL
High risk	< 35 mg/dL	< 45 mg/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 5.0 mg/dL to linearity limit of 151 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	28.0	76.1	27.5	75.3
SD	0.25	0.81	1.26	2.04
CV (%)	0.89	1.06	4.60	2.71

Sensitivity: 1mg/dL = 0,001399 (A).

Accuracy: Results obtained using BSM reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0.938.

Regression equation: y= 0.9825x – 1.41606 .

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

No interferences were observed to bilirubin, up to 30 mg/dL, hemoglobin up to 500 mg/dL, rheumatoid factors up to 1000 IU/mL or lipemia up to 1200 mg/dL.

Lipemic samples with a triglyceride concentration >1200 mg/dL should be diluted 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

NOTES

The reagent 2 presents yellowish coloration due to the peroxidase, but it does not affect its functionality.

BSM has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Triglyceride, High Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. Washington D.C. Feb 26-28, 1992.
- Izawa S., Okada M., Matsui H., and Horita Y. J. Medicine and Pharmaceutical Sci., 1385 - 1388, 37 (1997).
- Shih WJ, Bachorik PS, Haga JA, Myers GL, Stein EA; Clinical Chemistry, 2000; 46:3351 – 364
- Third Report of the National Cholesterol Education Programme (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA Publication, Vol 285, No. 19, P2486 - 2497; 2001.
- Jacobs, D. et al. In Laboratory and Test Handbook; Jacobs, D.S; Kasten, B.L., De Mott, W.R., Wolfson, W.L., Eds; Lexi - Comp Inc: Hudson (Cleveland), 1990; P. 219.

