



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SAS,

Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

COLESTEROL-HDL Método directo

Reactivo para la determinación cuantitativa del Colesterol-HDL en suero o plasma humano

REF 90206 (200-250 tests)	R1 1 x 60 mL	R2 1 x 20 mL
REF 90406 (400-500 tests)	R1: 2 x 60 mL	R2 : 2 x 20mL
REF 90426 (2000-2500 tests)	R1: 4 x 150 mL	R2 : 4 x 50 mL
incluido en cada caja REF 95506:	R1 : 1 x 2 mL	R2 : 1 x 5 mL

CODIGO CNQ: SX

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS

Tel: (33) 03 23 25 15 50

Fax: (33) 03 23 256 256



USO IN VITRO

SIGNIFICACION CLINICA (1) (3)

Se considera que la función principal de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) es la transferencia del colesterol desde los tejidos periféricos hacia el hígado. Las HDL ejercen un efecto protector para la aterosclerosis en general y en particular la aterosclerosis coronaria. La disminución de la tasa de Colesterol-HDL es entonces un indicador del riesgo aterogénico. El aumento de la relación Colesterol Total/ Colesterol -HDL, es significativo de un aumento del riesgo cardiovascular.

PRINCIPIO

Metodología « detergente selectivo y acelerador »
Método directo, sin pre-tratamiento de la muestra.

En el transcurso de la primera fase, las partículas LDL, VLDL, y Quilomicrones se liberan del Colesterol libre que, sometido a una reacción enzimática, producto del peróxido de hidrógeno, el cual es degradado bajo el efecto de la reacción con el POD y el DSBmT. No se forma ningún derivado coloreado.

En el transcurso de la segunda fase, un detergente específico solubiliza el colesterol-HDL. Bajo la acción combinada de la CO y CE, la pareja POD + 4-AAP desarrolla una reacción coloreada proporcional a la concentración en colesterol-HDL. La lectura se efectúa a 600 nm.

LDL = Lipoproteínas de baja densidad **HDL** = Lipoproteínas de alta densidad
VLDL = Lipoproteínas de muy baja densidad **POD** = Peroxidasa
CO = Colesterol Oxidasa **CE** = Colesterol Esterasa
4-AAP = 4-Aminoantipirina **AAO** = Ascorbato Oxidasa
DSBmT = N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidina-disodium

REACTIVOS

Vial R1

REACTIVO ACELERADOR

Tampón de Good

CO	< 1000	UI/L
POD	< 1300	ppg UI/L
DSBmT	< 1	mmol/L
Acelerador	< 1	mmol/L
Conservante	< 0,06	%

Vial R2

DETERGENTE SELECTIVO

Tampón de Good

CE	< 1500	UI/L
4-AAP	< 1	mmol/L
Detergente	< 2	%
Estabilizador	< 0,15	%
AAO	< 3000	UI/L
Conservante	< 0,06	%

REF 95506

BIOLABO CALIBRADOR HDL / LDL / CK MB

Vial R1 (liofilizado): 1 x 2 mL Vial R2 (diluyente) : 1 x 5 mL

Ver las instrucciones técnicas específicas del lote incluido en este maletín.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Los reactivos están listos para el uso.



ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar a 2-8°C, en el vial de origen bien cerrado y protegido de la luz

- Antes de abrir, Los reactivos y calibrador son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si están conservados y almacenados en las condiciones adecuadas.
 - Después de abrir y en ausencia de contaminación, los reactivos R1 y R2 son estables por lo menos 3 meses a 2-8°C, 24h a temperatura ambiente y 30 días en analizadores refrigerados
 - Después de reconstitución, REF 95506: consultar las instrucciones de uso específicas del lote
- No utilizar los reactivos si están turbios o si la absorbencia del blanco reactivo > 0,050.

Este reactivo debe ser refrigerado durante el transporte.

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas). No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar un médico.
- Los reactivos contiene azida sódica (concentración < 0,1%) que puede reaccionar con metales como el cobre o el plomo de las tuberías. Enjuagar con abundancia.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los desechos: respetar la legislación en vigor. Por medida de seguridad, tratar toda muestra como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (4)

La toma en el paciente se debe hacer por lo menos después de 12 h-14 h de ayuno.

Plasma: tomado sobre EDTA o heparinizado de sodio o de litio. Separar por centrifugación el plasma de las células sanguíneas dentro de las 3 horas después de la toma.

Suero: Separar por centrifugación el suero de las células sanguíneas dentro de las 3 horas después de la toma.

El colesterol-HDL es estable en la muestra:

- 1 a 3 días a 2-8°C
- 1 mes a -20°C.

INTERFERENCIAS (5)

Concentraciones probadas (mg/dL) sin interferencias significativas (± 10%):

Bilirrubina Conjugada:	60
Bilirrubina Total:	60
Hemoglobina:	1000
Acido Ascórbico:	100
Lípidos (Intralipid®):	1800
Triglicéridos endógenos:	2000
Gamma-globulinas:	5000

Este reactivo puede interferir con la determinación del magnesio.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Calibrador BIOLABO Colesterol-HDL [REF] 95406
3. Calibrador HDL LDL CK-MB [REF] 95506
4. O cualquier suero trazable de origen humano.
5. Sueros de control HDL LDL CK-MB (origen humano)
[REF] 95516 Control HDL LDL CK-MB Tasa 1
[REF] 95526 Control HDL LDL CK-MB Tasa 2
6. Sueros de control Colesterol-HDL (multitasa) de origen humano.

CALIBRACION

- No utilizar calibradores acuosos
- Utilizar el calibrador BIOLABO Colesterol-HDL [REF] 95406 trazable sobre el método de referencia del CDC (Standard secundario HDL-M04).
- O el calibrador HDL LDL CK-MB [REF] 95506 trazable sobre SMR® 1951b (Standard Referente Material ®) titulados al CDC (Center Disease Control)
- O cualquier otro calibrador trazable sobre un método o un material de referencia.

La frecuencia de calibración depende de la prestación del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.

Se recomienda calibrar de nuevo en los siguientes casos:

1. Cambio de lote del reactivo.
2. Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.
3. Los valores de control obtenidos salen de los límites de confianza, incluso después de la utilización de un segundo vial de suero de control recién reconstituido.

CONTROL DE CALIDAD

CODIGO CNQ: SX

- [REF] 95516 Control HDL LDL CK-MB Tasa 1
- [REF] 95526 Control HDL LDL CK-MB Tasa 2
- O cualquier otro suero de control de origen humano titulado para este método (detergente selectivo y acelerador).
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir la operación utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro calibrador o un calibrador recién reconstituido y repetir el test.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, calibrar nuevamente utilizando otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (6)

Colesterol-HDL	mg/dL	[mmol/L]
Tasa débil (factor de riesgo)	< 0,40	< 1,0
Tasa elevada (factor protector)	≥ 0,60	≥ 1,5

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios intervalos de referencias para la población estimada.

PRESTACIONES (4)

Intra-serie N = 20	Tasa baja	Tasa media	Tasa elevada	Inter-serie N = 40	Tasa baja	Tasa media	Tasa elevada
Media mg/dL	33	51	101	Media mg/dL	33	50	100
S.D. mg/dL	0,26	0,26	0,71	S.D. mg/dL	0,43	0,75	1,1
C.V. %	0,8	0,5	0,7	C.V. %	1,3	1,5	1,1

Límite de detección: aproximadamente 2.5 mg/dL.

Sensibilidad: aproximadamente 0,120 Abs. para 100 mg/dL.

Comparación(n=52) con Método de Comparación Designado (DCM):

Media BIOLABO: 58.3 mg/dL Media DCM: 56.3 mg/dL

Repartición BIOLABO: 33.6-133 mg/dL Repartición DCM: 32-133 mg/dL

BIOLABO = 0,99 (DCM) + 2.81 mg/dL r = 0,996

LIMITE DE LINEALIDAD

La reacción es lineal de 2.5 a 200 mg/dL (0,065 a 5,17 mmol/L). Más allá de esta concentración, diluir la muestra 1+1 con una solución NaCl 9 g/L y hacer de nuevo la prueba. Multiplicar el resultado por 2.

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

No utilizar calibradores acuosos.

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Verificar y regular el aparato para lectura sobres micro-volúmenes	Blanco	Calibrador	Prueba
Reactivo R1	300 µL	300 µL	300 µL
Calibrador		3 µL	
Muestra			3 µL
Mezclar bien, dejar reposar 5 minutos a 37°C. Registrar las absorbencias A1 a 600 nm contra el blanco reactivo			
Añadir	Blanco	Calibrador	Prueba
Reactivo R2	100 µL	100 µL	100 µL
Mezclar bien, dejar reposar 5 minutos a 37°C. Registrar las absorbencias A2 a 600 nm contra el blanco reactivo			

Notas:

1. En función de las características del instrumento, los volúmenes aquí arriba pueden ser modificados conservando la misma relación de dilución (ej.: R1 240 µL, R2 80 µL, muestra 2.4 µL o 3 µL). Referirse al § LINEALIDAD.
2. Procedimientos específicos están disponibles para los analizadores automáticos. Contactar el servicio técnico de BIOLABO.

CALCULO

Se recomienda la utilización de un analizador automático en modo bicromático (a 600 y 700 nm).

En método manual, calcular $\Delta Abs. = (A2 - 0,75 A1)$ para la prueba y el calibrador.

El resultado está determinado según la siguiente fórmula:

$$HDL-C = \frac{\Delta Abs. Prueba}{\Delta Abs. Calibrador} \times \text{concentración del calibrador}$$

$$mg/dL \times 0.02586 = mmol/L$$

BIBLIOGRAFIA

- (1) Badimon L. L., Badimon L., Fuester V., Regression of atherosclerotic lesions by HDL plasma fraction in the Cholesterol-fed rabbit, *Journal of clinical investigation*, (1990), 85, p. 1234-1241.
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 564-569
- (3) Gotto, A.M., Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, *Hospital Practice*, 23; Suppl. 1, 4 (1988)
- (4) Warnick, G. Russel, Wood, Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, *Clinical Chemistry*, Vol. 41, No 10, 1427-1433 (1995)
- (5) National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol No 7, Vol. 6, No 13, (Aug. 1986).
- (6) TIETZ N.W. *Clinical Guide to laboratory tests*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, (1986), p.256