



REF	Código	Presentación
	01614 07685	50 mL 100 mL

PRINCIPIO

La adición de ácido fosfotúngstico y iones de magnesio a la muestra provoca la precipitación de los quilomicrones VLDL (Very Low Density Lipoproteins) y LDL (Low Density Lipoproteins). El sobrenadante de la centrifugación contiene las HDL (High Density Lipoproteins), cuya concentración de Colesterol es determinada enzimáticamente.

El colesterol se determina por acción de las enzimas colesterol éster 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 peróxidasa reacciona con el sistema cromogénico dando origen a un compuesto coloreado que absorbe a 505 nm.

Colesterol ester CEH Colesterol + ácidos grasos
 Colesterol + O₂ CHOD Colesterol-3 ona + H₂O₂
 2H₂O₂ + 4-AAP + Phenol PAP Quinoneimine + 4H₂O
 (Comp. Coloreado)

SIGNIFICADO CLÍNICO

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) o colesterol bueno se encargan de vehicular el colesterol desde los tejidos periféricos hasta el hígado para su catabolismo a ácidos biliares o su incorporación a nuevas lipoproteínas. Pueden provenir de la síntesis hepática e intestinal o resultar del catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos.

CONTENIDOS

R 1 **REACTIVO PRECIPITANTE**
Ácido Fosfotungstico
Magnesio Cloruro

STD **PATRÓN**
Colesterol en solución acuosa estabilizada

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservado entre 15°C y 30°C y protegido de la luz, estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Los reactivos contienen menos del 0,1% de azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con tuberías de cobre y plomo formando compuestos explosivos. Las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos deben ser respetadas, descartar con abundante agua.

REACTIVOS ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- **COLESTEROL TOTAL** -Reactivo Líquido para la determinación Enzimática de Colesterol Total en suero o plasma

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Baño termoregulado.
- Centrifuga.
- Espectrofotómetro o foto colorímetro de filtros capaz de medir absorbancia a 505 nm. (rango 492-546 nm)
- Pipetas automáticas.
- Cronometro y/o timer.

MUESTRAS

La muestra a utilizar puede ser tanto suero (libre de hemólisis) o plasma (Heparina o EDTA). Decantar el suero lo antes posible del coágulo sanguíneo. El Colesterol HDL en el suero es estable 6 días a +2 -25°C y hasta cuatro (4) meses a -20 °C.

PROCEDIMIENTO

PRECIPITACIÓN

Pipetear en los tubos de centrifuga:

Muestra	200 µL
Reactivo Precipitante	500 µL

Mezclar, dejar estar 10 minutos a temperatura ambiente y centrifugar 10 minutos a 4000 rpm como mínimo, ó 2 min. a 12000 rpm.

Recoger el sobrenadante y procesar como muestra en la determinación de colesterol total.

DETERMINACIÓN DE COLESTEROL

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizará el ensayo. Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
MUESTRA -Sobrenadante (µL)	--	--	100
PATRÓN (µL)	--	100	--
REACTIVO (mL)	1,00	1,00	1,00

Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a temperatura ambiente. Leer las absorbancias llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante se establece por lo menos treinta minutos.

CÁLCULOS

$$\text{FACTOR} = \frac{175}{\text{Absorbancia Estándar}}$$

Nota: El valor 175 se obtiene multiplicando 50 x 3,5 donde:
 • 3,5 es un factor de corrección por la dilución del suero durante la precipitación de la fracción HDL.
 • 50 es el Valor de la Concentración del Patrón.

Colesterol HDL (mg/dL) = Factor x Abs. Muestra

NOTAS

El sobrenadante de la centrifugación debe ser claro. En muestras con alto contenido en Triglicéridos (>1000 mg/dL) puede presentarse una precipitación incompleta de las lipoproteínas (Sobrenadante turbio) o la flotación de una parte de las lipoproteínas precipitadas sobre el líquido. En estos casos se repite la precipitación después de la predilución 1:1 de la muestra con solución de cloruro sódico al 0,9%. El resultado de la determinación de colesterol se multiplica por 2. El ácido Ascórbico provoca valores más bajos.

VALORES DE REFERENCIA

	Hombres	Mujeres
Valor Favorable	> 55 mg/dL	> 65 mg/dL
Nivel de Riesgo	35 - 55 mg/dL	45 - 65 mg/dL
Riesgo Alto	<35 mg/dL	< 45 mg/dL

CONTROL DE CALIDAD

Pueden ser empleados todos los sueros con valores de colesterol HDL determinados por este método. Nosotros recomendamos el uso de nuestro suero **IHR Diagnóstica** para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida. Cada laboratorio debe establecer su propio programa de control de calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta 125 mg/dL. Para valores superiores, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución. En el caso de sueros muy hiperlipémicos, deberá hacerse un blanco muestra con suero fisiológico para eliminar la posible interferencia por la turbidez del suero.

REPETITIVIDAD

Concentración media	S.D.	C.V.%
32 mg/dL	0,5	1,6
63 mg/dL	0,8	1,3

REPRODUCIBILIDAD

Concentración media	S.D.	C.V.%
33 mg/dL	1,7	3,9
73 mg/dL	2,3	3,8

LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección fotométrica hallado fue 0,006 ABS correspondiente a 1,0 mg/dL

CORRELACIÓN

Una comparación entre este procedimiento y un reactivo de precipitación similar produjo un ecuación de regresión lineal de y= 0,98x + 0,5 con un coeficiente de correlación (r) igual a 0,999. (n=50).

INTERFERENCIAS

Algunos medicamentos y sustancias afectan las concentraciones de colesterol detectadas en las muestras. Consultar Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th Ed AACC, 1995⁴

BIBLIOGRAFÍA

- 1.Morin, L.G., Clin. Chem. 20:51 (1974).
- 2.Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. 2 Ed. Harper and Row Publisher. New York, 1974.
- 3.Young D.S., et al., Clin Chem. 21:1D 1975.
4. Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th Ed AACC, 1995

Índice de Símbolos					
	Producto para diagnóstico in-vitro		Referencia o Código		Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Límite de Temperatura		Riesgo Biológico		

