

Determinación cuantitativa de colesterol HDL IVD

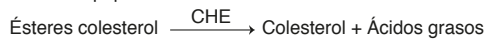
Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

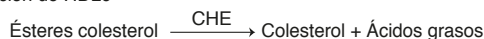
Determinación directa del HDLc (colesterol de lipoproteínas de alta densidad) sin necesidad de pre-tratamiento o centrifugado de la muestra^{3,5}.

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 de alta densidad que transportan el colesterol desde los tejidos del cuerpo hasta el hígado. Debido a que las HDL pueden retirar el colesterol de las arterias y transportarlo de vuelta al hígado para su excreción, se les conoce como el colesterol o 'lipoproteína buena', 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	≥ 500 U/L
	Catalasa	≥ 300 U/L
R 2	N,N-bis (2-hidroxietil)-2-aminoetanosulfónico ácido pH 7,0	1,1 mmol/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 (Nota 1)

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 570 nm.

- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.

- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero, plasma heparinizado o plasma EDTA. Si alguna muestra presenta precipitados, centrifugar antes de usar.

Estabilidad de la muestra: 6 días a 2-8°C y 1 año conservada a -70°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 550-650 nm

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura: 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

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

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

5. Añadir:

	Blanco	Calibrador	Muestra
R 2 (μL)	100	100	100

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

CÁLCULOS

$\frac{(A2-A1) \text{ Muestra} - (A2-A1) \text{ Blanco}}{(A2-A1) \text{ Calibrador} - (A2-A1) \text{ Blanco}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de HDLcolesterol en la muestra}$

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

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

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 5,0 mg/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 NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	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 SPINREACT (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 NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

NOTAS

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

2. SPINREACT 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 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.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001096 R1: 1 x 60 mL, R2: 1 x 20 mL, CAL: 1 x 1 mL

Ref: 1001097 R1: 1 x 30 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL: 1 x 1 mL

Ref: 1001098 R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 80 mL, CAL: 1 x 1 mL

Ref: 1001099 R1: 3 x 240 mL, R2: 1 x 240 mL, CAL: 4 x 1 mL

Quantitative determination of HDL cholesterol IVD

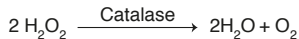
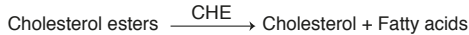
Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

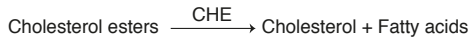
Directly determination of serum HDLc (high-density lipoprotein cholesterol) levels without the need for any pre-treatment or centrifugation of the sample^{3,5}.

The assay takes place in two steps.

- 1° Elimination of lipoprotein no-HDL



- 2° Measurement of HDLc



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

CLINICAL SIGNIFICANCE

HDL particles are high-density lipoproteins that transport cholesterol from the body tissues to the liver. Since HDL can remove cholesterol from the arteries and carry it back to the liver for their excretion, 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 N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline (HDAOS) Cholesterol Esterase Cholesterol oxidase Catalase Ascorbic oxidase	100 mM 0,7 mM ≥ 800 U/L ≥ 500 U/L ≥ 300 U/L ≥ 3000 U/L
R 2	N,N-bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulphonic acid pH 7,0 4 - Aminoantipyrine (4-AA) Peroxidase	1,1 mmol/L 100 mM ≥ 3500 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, protected from light and contaminations are prevented during their use. Do not freeze the reagents.

- **HDLc / LDLc CAL**: Once reconstitute is stable 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 570 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.

Stability of the sample: 6 days at 2-8°C and 1 year when stored at -70°C.

PROCEDURE

1. Assay conditions:

Wavelength: 550-650 nm

Cuvette: 1 cm light path

Temperature: 37°C

2. Adjust the instrument to zero with distilled water.

3. Pipette into a cuvette:

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

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

5. Add:

	Blank	Calibrator	Sample
R 2 (μL)	100	100	100

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

CALCULATIONS

$$\frac{(A2-A1) \text{ Sample} - (A2-A1) \text{ Blank}}{(A2-A1) \text{ Calibrator} - (A2-A1) \text{ Blank}} \times \text{Calibrator conc.} = \text{mg/dL of HDL-c in the sample}$$

Conversion factor: mg/dL x 0,0259= mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

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:

Mean (mg/dL)	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	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 1 mg/dL = 0,001399 (A).

Accuracy: Results obtained using SPINREACT 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

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

2. SPINREACT 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; 46:3:351 – 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.

PACKAGING

Ref: 1001096	Cont.	R1: 1 x 60 mL, R2: 1 x 20 mL, CAL: 1 x 1 mL
Ref: 1001097		R1: 1 x 30 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL: 1 x 1 mL
Ref: 1001098		R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 80 mL, CAL: 1 x 1 mL
Ref: 1001099		R1: 3 x 240 mL, R2: 1 x 240 mL, CAL: 4 x 1 mL

Détermination quantitative de cholestérol HDL IVD

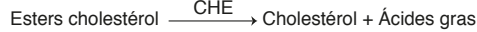
Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

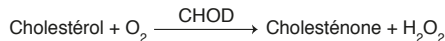
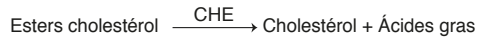
Détermination directe de HDL (cholestérol de lipoprotéines de haute densité) sans besoin de prétraitement ou centrifugation de l'échantillon^{3,5}.

La détermination est réalisée en deux étapes:

- 1° Elimination de lipoprotéines non-HDL



- 2° Mesure de HDL



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de HDL présente dans l'échantillon testé.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les particules de HDL sont des lipoprotéines qui transportent le cholestérol vers les cellules. Le cholestérol transporté par les lipoprotéines à forte densité est appelé "bon cholestérol", étant donné que des niveaux élevés sont associés à un risque cardiovasculaire faible. Un niveau faible de cholestérol HDL est considéré comme l'un des principaux facteurs de risque cardiovasculaire et de maladies des artères coronaires^{1,2,4}.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIF

R 1	N,N-bis (2-hydroxyéthyl)-2-Acide Aminoéthanesulfonique pH 6,6	100 mM
	N-(2-hydroxy-3-sulfo-propyl)-3,5-diméthoxyaniline (HDAOs)	0,7 mM
	Cholestérol estérase	≥ 800 U/L
	Cholestérol oxydase	≥ 500 U/L
	Catalase	≥ 300 U/L
	Ascorbique oxydase	≥ 3000 U/L
R 2	N,N-bis (2-hydroxyéthyl)-2-Acide Aminoéthanesulfonique pH 7,0	1,1 mmol/L
	4 - Aminoantipyrine (4-AA)	100 mM
	Péroxydase	≥ 3500 U/L
HDLc/ LDLc CAL	Calibrateur. Sérum humain lyophilisé.	

PRECAUTIONS

HDLc/ LDLc CAL

Les composants d'origine humaine se sont révélés négatifs pour l'antigène HBs, HCV et pour l'anti-HIV (1/2). Toutefois, ils doivent être considérés avec précaution car ils sont très infectieux.

PREPARATION

- R 1 et R 2: Prêts à l'emploi.

- HDLc/ LDLc CAL: Reconstituer le contenu d'une capsule avec 1 mL d'eau distillée. Fermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.

CONSERVATION ET STABILITE (Remarque 1)

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la capsule, et si les capsules sont maintenues hermétiquement fermées à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas congeler les réactifs.

- HDLc / LDLc CAL: Une fois reconstitué stable 30 heures à 20-25°C, 2 semaines à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 570 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum, plasma hépariné ou plasma EDTA. Si tout échantillons montrent précipités, centrifugeuse avant d'utiliser.

Stabilité de l'échantillon: 6 jours à 2-8°C et 1 année stocké à -70°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 Longueur d'ondes: 550-650 nm
 Cuvette: 1 cm d'éclairage
 Température 37°C

2. Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.

3. Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Calibreur	Echantillon
R 1 (μL)	300	300	300
Calibreur (μL)	--	3	--
Echantillon (μL)	--	--	3

4. Mélanger, laisser incuber 5 min à 37°C y lire l'absorbance (A1) du calibreur et l'échantillon.

5. Ajouter:

	Blanc	Calibreur	Echantillon
R 2 (μL)	100	100	100

6. Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C et lire l'absorbance (A2) en fonction du blanc du réactif.

CALCULS

$$\frac{(A2-A1) \text{ Échantillon} - (A2-A1) \text{ Blanc}}{(A2-A1) \text{ Calibreur} - (A2-A1) \text{ Blanc}} \times \text{Calibreur conc.} = \text{mg/dL de HDL cholestérol dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 0,0259 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINCONTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

	Hommes	Femmes
Risque mineur	> 50 mg/dL	> 60 mg/dL
Risque normal	35 - 50 mg/dL	45 - 60 mg/dL
Risque élevé	< 35 mg/dL	< 45 mg/dL

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 5,0 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité 151 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	Moyenne (mg/dL)	SD	Moyenne (mg/dL)	SD
Moyenne (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

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

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x). Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,938.

Equation de la Courbe de régression: y = 0,9825x - 1,41606.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Aucune interférence n'a été constatée avec la bilirubine T. et D. jusqu'à 60 mg/dL, avec l'hémoglobine jusqu'à 1000 mg/dL ou avec la lipémie jusqu'à 1800 mg/dL.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination du cholestérol HDL^{3,4}.

REMARQUES

- Le réactif 2 présente une coloration jaune due à la peroxydase qu'il contient, ce qui n'affecte pas dans l'absolu la fonctionnalité du réactif.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- 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; 46:3:351 - 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.

PRESENTATION

Réf: 1001096		R1: 1 x 60 mL, R2: 1 x 20 mL, CAL: 1 x 1 mL
Réf: 1001097	Cont.	R1: 1 x 30 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL: 1 x 1 mL
Réf: 1001098		R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 80 mL, CAL: 1 x 1 mL
Réf: 1001099		R1: 3 x 240 mL, R2: 1 x 240 mL, CAL: 4 x 1 mL

Determinação quantitativa de colesterol HDL
IVD

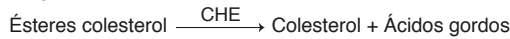
Conservar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

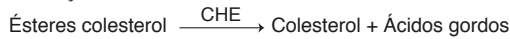
 Determinação directa do HDLc (colesterol de lipoproteínas de alta densidade) sem necessidade de pré-tratamento ou centrifugação da amostra^{3,5}.

A determinação realiza-se em dois passos:

- 1º Eliminação de lipoproteínas não-HDL



- 2º Determinação de HDLc



A intensidade da coloração formada é proporcional à da concentração do HDLc presente na amostra testada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

 As partículas de HDL são lipoproteínas que transportam o colesterol para as células. O colesterol transportado pelas lipoproteínas de alta densidade é geralmente denominado de " bom colesterol", já que níveis elevados estão relacionados com um menor risco cardiovascular. Um nível baixo de colesterol HDL é considerado um dos principais factores de risco cardiovascular e patologias das artérias coronárias^{1,2,4}.

O diagnóstico clínico deve realizar-se tendo em conta todos os dados clínicos e de laboratório.

REAGENTES

R 1	N,N-bis (2-hidroxiethyl)-2-Aminoetanossulfónico acido ph 6,6	100 mM
	N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5, dimetoxianilina (HDAOS)	0,7 mM
	Colesterol esterase	≥ 800 U/L
	Colesterol oxidase	≥ 500 U/L
	Catalase	≥ 300 U/L
	Ascorbico oxidase	≥ 3000 U/L
R 2	N,N-bis(2-hidroxiethyl)-2-Aminoetanossulfónico acido ph 7,0	1,1 mmol/L
	4 - Aminoantipirina (4-AA)	100 mM
	Peroxidase	≥ 3500 U/L
	HDLc/ LDLc CAL	Calibrador. Soro humano liofilizado.

PRECAUÇÕES
HDLc/ LDLc CAL

Os componentes de origem humana deram resultado negativo para o antígeno HBs, HCV e para o anti-HIV (1/2). No entanto, devem ser sempre manipulados com precaução, como potencialmente infecciosos.

PREPARAÇÃO

- R 1 e R 2: Prontos para utilização.

- HDLc/ LDLc CAL: Reconstituir o conteúdo de um frasco com 1 mL de água destilada. Tapar o frasco e misturar suavemente até à dissolução do seu conteúdo.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE ^(Nota 1)

Todos os componentes do kit são estáveis, até ao final do prazo de validade indicado no rótulo, quando mantidos nos frascos bem fechados, a 2-8°C, protegidos da luz e evitando a sua contaminação. Não congelar os reagentes.

- HDLc / LDLc CAL: Uma vez reconstituído é estável 30 horas a 20-25°C, 2 semanas a 2-8°C ou 3 meses a -20°C.

Não usar reagentes fora de prazo.

Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou equipamento com cuvete para leituras a 570 nm.
- Cuvete de 1,0 cm de passagem de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro, plasma heparinizado ou plasma EDTA. Se qualquer amostras mostrarem precipitados, centrifuga antes de usar.

Estabilidade da amostra: 6 dias a 2-8°C e 1 ano armazenado a -70°C.

PROCEDIMENTO

- Condições da análise:
 - Comprimento de onda: 550-650 nm
 - Cuvete: 1 cm passo de luz
 - Temperatura: 37°C

2. Ajustar o espectrofotómetro a zero frente a água destilada.

3. Pipetar para uma cuvete:

	Branco	Calibrador	Amostra
R 1 (µL)	300	300	300
Calibrador (µL)	--	3	--
Amostra (µL)	--	--	3

4. Misturar e incubar 5 min a 37°C e ler a absorvância (A1) do calibrador e da amostra.

5. Adicionar:

	Branco	Calibrador	Amostra
R 2 (µL)	100	100	100

6. Misturar e incubar 5 minutos a 37°C e ler a absorvância (A2) frente ao branco de reagente.

CÁLCULOS

$$\frac{(A2-A1) \text{ Amostra} - (A2-A1) \text{ Branco}}{(A2-A1) \text{ Calibrador} - (A2-A1) \text{ Branco}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de HDL colesterol na Amostra}$$
Factor de conversão: mg/dL x 0,0259 = mmol/L.

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras, os soros controlo valorizados: SPINROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores determinados estiverem fora do intervalo de tolerância, verificar o equipamento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

VALORES DE REFERÊNCIA

	Homens	Mulheres
Risco menor	> 50 mg/dL	> 60 mg/dL
Risco normal	35 - 50 mg/dL	45 - 60 mg/dL
Risco elevado	< 35 mg/dL	< 45 mg/dL

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO
Intervalo de medida: Desde o limite de deteção de 5,0 mg/dL até ao limite de linearidade de 151 mg/dL.

Se a concentração da amostra for superior ao limite de linearidade, diluir 1/2 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 2.

Precisão:

Média (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)
28,0	0,25	0,89	27,5	1,26
76,1	0,81	1,06	75,3	2,04
			4,60	2,71

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

Exactidão: Os reagentes SPINREACT (y) não amostram diferenças sistemáticas significativas quando se comparam com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

 Coeficiente de correlação (r)²: 0,938.

Equação da recta de regressão: y = 0,9825x - 1,41606.

As características do método podem variar segundo o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Não se observaram interferências com Bilirrubina até 30 mg/dL, hemoglobina até 500 mg/dL, factores reumatóides até 1000 UI/mL ou lipémia até 1200 mg/dL.

Amostras lipemicas com concentrações de trigliceridos superiores a 1200 mg/dL devem ser diluídas 1/10 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 10.

NOTAS

- O reagente 2 apresenta coloração amarelada devido ao conteúdo de peroxidase, o qual não afecta de modo algum a funcionalidade do reagente.
- SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes equipamentos.

BIBLIOGRAFIA

- 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.

APRESENTAÇÃO

Ref: 1001096	Cont.	R1: 1 x 60 mL, R2: 1 x 20 mL, CAL: 1 x 1 mL
Ref: 1001097		R1: 1 x 30 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL: 1 x 1 mL
Ref: 1001098		R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 80 mL, CAL: 1 x 1 mL
Ref: 1001099		R1: 3 x 240 mL, R2: 1 x 240 mL, CAL: 4 x 1 mL