

PRECIPITANTE HDL COLESTEROL**USO:**

Para la determinación cuantitativa de lipoproteínas de alta densidad (HDL) colesterol en suero.

HISTORIA DEL METODO:

Los primeros métodos para la determinación de HDL Colesterol incluyen ultra centrifugación. Aunque este método ha pasado por algunas modificaciones, se considera método de referencia, sigue siendo un procedimiento tedioso y que lleva mucho tiempo y equipo costoso, además de personal bien entrenado. La electroforesis ha sido utilizada para las pruebas cualitativas de las lipoproteínas pero no ha sido usada como herramienta cuantitativa por los problemas en precisión y estandarización que presenta.

Los métodos de separación más recientes incluyen el uso de polianiones y cationes divalentes para precipitar las lipoproteínas dejando el HDL, en el sobrenadante. Algunos de los reactivos usados incluyen heparin- MN, Fosfotungstanoato de magnesio, Sodio, Dextrasulfato y otros.

PRINCIPIO:

Cuando se combina el suero con el reactivo de Polietilenglicol, todas las proteínas beta (LDH y VLDL) se precipitan. La fracción HDL (fracción alfa) se queda como sobrenadante se trata como muestra y practica la prueba de colesterol como un método enzimático. El valor es el correspondiente al HDL Colesterol.

REACTIVOS:

HDL Colesterol reactivo precipitante 20 % polietilenglicol en buffer glicina a PH 10.0 (25oC.)

PRECAUCIONES:

Este reactivo es para diagnóstico "In Vitro".

PREPARACION DEL REACTIVO:

El reactivo esta listo para usarse.

ALMACEN DEL REACTIVO:

A temperatura ambiente (25°C) cerrado herméticamente.

DETERIORO DEL REACTIVO: NO SE USE SI:

1. Los cristales de sedimentación aparecen en el reactivo.
2. El reactivo no iguala los parámetros de desempeño.

COLECCION Y ALMACEN DE LA MUESTRA:

1. Se recomienda suero fresco no hemolizado.

2. El paciente debe estar en ayuno por 12-14 horas.
3. HDL en suero se reporta estable por 7 días a 2-8°C. y por tres meses congelado.

MATERIALES:

Reactivo precipitante de HDL Colesterol.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS:

1. Set enzimático de Colesterol.
2. Centrifuga capaz de 1000-2000 G (Centrifuga standard de Cab)
3. Instrumentos de pipeteo.
4. Tubos de ensayo.
5. reloj.
6. Bloc Térmico (37°C)
7. Espectro capaz de leer 520 NM.

PROCEDIMIENTO:

1. Separación del HDL Colesterol.
 - Etiquete tubos para control y pacientes
 - Pipetee 0.5 ml.(500 ul) de muestra en los tubos.
 - Pipetee 0.5 ml (500 ul) de reactivo precipitante en cada tubo usando un vortex.
 - Centrifugue a 1000-2000 G por 10 minutos.
2. Determinación del HDL Colesterol.
 - Etiquete blanco, estándar, controles y pacientes.
 - Pipetee 1.0 del reactivo enzimático de colesterol preparado de acuerdo al instructivo del paquete en cada tubo.
 - Pipetee 0.05 ml (50 ul) de estándar o sobrenadante del paso # 4 a los tubos respectivos.
 - Incube todos los tubos 10 minutos a 37°C.
 - Ponga en cero a 520 nm con blanco de reactivo
 - Lea la absorción de todos los tubos a 520 nm
 - Para obtener los valores en mg/dl vea cálculos.

NOTAS DE PROCESO:

Los resultados finales del HDL deben multiplicarse por dos para compensar la dilución 1:1 con el reactivo precipitante, el volumen de la muestra y el reactivo precipitante puede variar si se mantiene la dilución 1:1 (por ej. 0.2 ml c. u.).

CALIBRACION Y CONTROL DE CALIDAD:

Esta prueba se calibró con un calibrador basado en suero o un estándar de calibrador acuoso (50 mg/dl). Los sueros control con valores de HDL conocido se deben correr rutinariamente para monitorear la validez del procedimiento.

CALCULOS:

$$\text{Colesterol HDL (mg / dl)} = \frac{\text{Abs. Muestra} \times \text{Concentración del } \times 2}{\text{Abs. S tandard} \quad \text{S tandard}}$$

Donde el 2 es el factor de dilución.

LIMITANTES:

Especímenes ictericos no se deben usar ya que pueden dar resultados erróneos.

El ácido ascórbico inhibe la determinación enzimática del colesterol

VALORES ESPERADOS:

Colesterol HDL 30-75 mg/dl

LDL 66-178mg/dl

LDL puede ser calculado usando la sig. formula:

LDL Colesterol total-HDL Colesterol- Triglicérido

Esta ecuación es real solo si el valor del triglicérido es menor que 400 mg/dl y el paciente no tiene hiperlipoproteinemia tipo III.

DESEMPEÑO

1.- Se hizo una prueba entre el reactivo y un método de fusofotungtanato /Mg dando un coeficiente de correlación de 0.982 con una ecuación lineal de regresión de: $y=0.85 \times 5.5$

2.- Precisión:**Entre a Pruebas**

Conc.	DE.	C.V%
37	1.9	5.1
72	0.9	1.3

Prueba a Prueba

Conc.	S.D.	C.V%
36	1.7	4.7
73	1.1	1.5

REFERENCIAS:

1. Havel, R.J., Invest. 34:1345 (1955)
2. Erving A.M. et al Adv. Lipid Res 3:35
3. Albers. J.J. Warnick, G.R. Lab. Management pp 31-39 (Feb. 1981)
4. Barr. D.P. et Am. J. Med. 11:480 (1951)
5. Dyerberg. J., Clin Chem. Acta 61:103 (1975)
6. Warnick, G.R. et al Clin. Chem 25:596 (1979)
7. Wilson, D.E. , Spizer, M.J.J. Lab. Clin. Med. 82:473 (1973)
8. Burnstein, M., et al J. Lipid Res. 11:583 (1970)
9. Finley , P. R., et al , Clin . Chem 24:931 (1978)
10. Viicari, J., Scand. J. Clin. Lab. Invest. 36:265 (1976)
11. Demacker, P.N.M. et al , Clin , Chem 26/13:1775 (1980)
12. Izzo C., et al , Clin , Chem. 27/3:371 (1981)
13. Castelli, W.P., et al , Circulation 55:767 (1977)
14. Friedewald, W.I., et al ,Clin, Chem. 18:499 (1972)

	DISTRIBUOTOR:
	MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.
	8684 Ave. de la Fuente Ste. 14
	San Diego CA. 92154
	Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297
	www.mymssupply.com
	email: mail@mymssupply.com