

REF 10211-4 4 x 29 mL/10mL

HDL COLESTEROL (HDL)

Cada compartimiento contiene una cantidad utilizable de 29 mL de reactivo R1 y 10 mL de reactivo R2.

USO PREVISTO

El reactivo HDL EasyRA se utiliza para la determinación cuantitativa de colesterol de lipoproteínas de alta densidad en suero humano o plasma, mediante el Analizador químico MEDICA EasyRA® en laboratorios clínicos.

Utilizar únicamente para diagnóstico *in vitro*. Sólo para uso profesional.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Las proteínas disuelven y transportan colesterol y otros lípidos en el torrente sanguíneo. Existen varias clases de lipoproteínas que exhiben distintos efectos en el corazón y el sistema cardiovascular.¹ La presencia de cantidades elevadas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) está asociada con un bajo riesgo de enfermedad coronaria y también puede ser un factor protector. Las determinaciones del colesterol HDL ayudan en el diagnóstico y tratamiento temprano de los trastornos del metabolismo lipídico y de lipoproteínas. Bajos niveles de colesterol HDL han sido fuertemente asociados con un aumento en el riesgo de enfermedad coronaria y enfermedad arterial coronaria.^{2,3} Por lo tanto, la determinación de HDL-C en suero ayuda a identificar a los pacientes de alto riesgo. Los expertos del Panel de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP) recomienda hacer cada cinco años un perfil de lipoproteínas en ayunas (colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos) a todos los adultos de 20 años de edad o más, para detectar cualquier riesgo de enfermedad coronaria.⁴ El método de referencia para el colesterol HDL es el análisis Abell-Kendall.⁵ Sin embargo, como el método de referencia requiere ultracentrifugación y precipitación y no puede ser totalmente automático, se desarrollaron métodos homogéneos (directos). Este método se basa en acelerar la reacción de la colesterol oxidasa con colesterol que no contiene HDL y no está esterificado y disolver selectivamente el HDL utilizando un detergente específico (es decir, método "detergente selectivo + Acelerador" [Accelerator Selective Detergent]).

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Este método directo de análisis para medir el colesterol HDL involucra el retiro de otras lipoproteínas que no son HDL a través de la reacción selectiva por el reactivo 1. En el segundo paso, el detergente selectivo en el reactivo 2 disuelve específicamente el colesterol HDL, el cual después reacciona con un cromógeno para desarrollar un color que se puede detectar óptimamente a 600 nm. La intensidad del color en la absorbancia máxima a 600 nm es proporcional a la concentración de colesterol HDL en la muestra.

REACTIVOS

REACTIVO HDL (R1):

| | |
|---|----------------|
| Buffer Good | |
| Colesterol oxidasa (E. Coli) | < 1000U/L |
| Peroxidasa (Rábano picante) | < 1300 ppg U/L |
| N,N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidina disódica (DSBmT) | < 1 mM |
| Acelerador | < 1 mM |
| Conservante | < 0,06% |

Reactivo HDL (R2):

| | |
|---|------------|
| Buffer Good | |
| Colesterol esterasa (pseudomonas sp.) | < 1500 U/L |
| 4-Aminoantipirina | < 1 mM |
| Detergente | < 2% |
| Amortiguador | < 0,15% |
| Conservante | < 0,06% |
| Ácido ascórbico oxidasa (Curcubita sp.) | < 3000 U/L |

PRECAUCIONES

1. Se deben seguir buenas practicas de seguridad en el laboratorio cuando se manipula cualquier reactivo. (CLSI, GP17-A2).
2. Los reactivos contienen menos de 0,1% de azida sódica que puede reaccionar al entrar en contacto con tubos de plomo y cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Consulte la hoja de datos de seguridad para obtener información sobre los riesgos, el peligro y la seguridad.
3. Como en todos los casos de procedimientos de evaluación de diagnóstico, los resultados se deben interpretar teniendo en cuenta todos los otros resultados de las evaluaciones y el estado clínico del paciente.
4. No utilice cubetas lavadas.

INSTRUCCIONES PARA LA MANIPULACIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y LA ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

El reactivo está listo para usar. El reactivo que no fue abierto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacena a 2 °C-8 °C. El reactivo es estable una vez cargado en el área refrigerada para reactivos del Analizador EasyRA por la cantidad de días programados en el chip RFID que se encuentra en el compartimiento del reactivo. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA/ESTABILIDAD⁵

El espécimen requerido es suero o plasma fresco extraído del paciente en ayunas de 12-14 horas. Las muestras de plasma deben recolectarse utilizando heparina de litio como anticoagulante. Retire el suero o el plasma lo antes posible después de la recolección (dentro de las 3 horas). Si el ensayo no se realiza dentro de las 14 horas siguientes, el suero puede almacenarse hasta 7 días a 2 °C-8 °C. Si es necesario guardar los especímenes por más de 1 semana antes de su análisis, se pueden congelar a < -70 °C hasta 3 meses. Las muestras sólo se pueden congelar una vez. Consulte la publicación H18-A del CLSI para más instrucciones sobre la recolección, la manipulación y el almacenamiento del espécimen.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

Compartimiento de reactivo HDL (Medica HDL Reagent Wedge), REF 10211

Materiales adicionales necesarios

Calibrador DHL Medica, REF 10653

Medica EasyQC® Chemistry/Electrolytes – Nivel A, REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Nivel B, REF 10794

Método de diagnóstico Dye Test – Medica Precision Test Dye Wedge, REF 10764

Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE, REF 10660 o

Medica Cleaner Wedge – Chemistry, REF 10661

Instrucciones de uso

El reactivo está listo para usar. Retire la tapa del reactivo y colóquelo en la bandeja para el reactivo del Analizador EasyRA ubicada en el área de los reactivos. Una vez en el compartimiento, la estabilidad del reactivo (máximo 60 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos.

Nota: verifique que no haya espuma en la parte interna del cuello del compartimiento después de retirar las tapas y colocar el compartimiento en el analizador. Si encuentra espuma, retírela con un hisopo o una pipeta desechable antes de realizar el análisis. Utilice distintos hisopos o pipetas desechables para los R1 y R2.

Calibración

Se recomienda el calibrador HDL Medica, REF 10653, para la calibración del ensayo. El intervalo de calibración (máximo 30 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos. La calibración es necesaria cada vez que hay un cambio en el lote del reactivo o si ocurre un cambio en los valores de control de calidad.

Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control del suero humano (normal y anormal) en el ensayo todos los días, cada vez que se le realicen pruebas al paciente y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

Resultados

Al terminar el ensayo, el Analizador EasyRA calcula la concentración de HDL de la proporción de la absorbancia corregida de la muestra desconocida con la absorbancia corregida del calibrador multiplicada por el valor del calibrador.

$$\text{HDL (mg/dL)} = \frac{[(A_{U_{600}} - A_{U_{700}}) - (A_{R_{BIK_{600}}} - A_{R_{BIK_{700}}})] - [(A_{U_{600}} - A_{U_{700}})_{S_{BIK}} - (A_{R_{BIK_{600}}} - A_{R_{BIK_{700}}})_{S_{BIK}}] \times dF}{[(A_{C_{600}} - A_{C_{700}}) - (A_{R_{BIK_{600}}} - A_{R_{BIK_{700}}})] - [(A_{C_{600}} - A_{C_{700}})_{S_{BIK}} - (A_{R_{BIK_{600}}} - A_{R_{BIK_{700}}})_{S_{BIK}}] \times dF} \times \text{Valor Cal}$$

Donde A_U y A_C son los valores de absorbancia de la muestra desconocida y del calibrador, respectivamente, $A_{R_{BIK}}$ es la absorbancia del blanco del reactivo, S_{BIK} es el blanco de la muestra y "Valor Cal" es la concentración de HDL en el calibrador (mg/L). Como el volumen de la reacción varía al agregar más tarde el reactivo R2, existe un factor de corrección de dilución (dF) que se incluye en el cálculo.

Valores esperados⁶

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores debido a las diferencias que existen entre los instrumentos, los laboratorios y la población local.

El NCEP, Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (National Cholesterol Education Program) define la concentración en suero de HDL-C inferior a 40 mg/dL como un factor independiente de riesgo significativo para la enfermedad coronaria. Similarmente, las concentraciones superiores a 60 mg/dL han sido definidas como factores de "riesgo negativo", enfatizando el efecto protector del colesterol HDL alto.

Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)

Evite el uso de muestras de plasma o suero altamente hemolizadas.

El Analizador EasyRA marca cualquier resultado por encima de 150 mg/dL como Alta Linealidad "LH". Si el operador lo programó, la muestra se volverá a analizar utilizando un volumen más pequeño de muestra. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen de muestra más pequeño. Esto aumentará efectivamente el rango lineal del análisis de HDL hasta 300 mg/dL.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO⁷

Rango a reportar

El rango a reportar es de 2 a 150 mg/dL.

Inexactitud/Correlación (CLSI, EP9-A2)

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del reactivo Medica para HDL (y) en el Analizador EasyRA con un reactivo similar para HDL (x) en el Analizador Roche COBAS MIRA*. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas obtenidas en el Analizador EasyRA vs. el promedio de dos valores replicados obtenidos en el analizador Roche COBAS MIRA.

| | | | |
|-----------------------------|--------|-----------------------|----------------------|
| Número de muestras | 61 | Rango de muestras | 2 hasta 148 mg/dL. |
| Pendiente | 0,93 | Intercepto con y | 1,8 |
| Coefficiente de correlación | 0,9976 | Ecuación de regresión | $Y = 0,93 * X + 1,8$ |

*Cobas Mira es una marca registrada de Roche Diagnostics, INC., Indianápolis, Indiana.

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación de muestras coincidentes de suero (x) y plasma heparinizado con litio (y) utilizando el reactivo de HDL Medica en el Analizador EasyRA. Los datos que se indican a continuación representan una determinación única de plasma frente al promedio de dos valores replicados de suero.

| | | | |
|--------------------|--------|-----------------------|---------------------------|
| Número de muestras | 70 | Rango de muestras | 1,62 to 14,71 mg/dl |
| Pendiente | 0,9854 | Intercepto con y | -0,0643 |
| Correlación | 0,9891 | Ecuación de regresión | $Y = 0,9854 * X - 0,0643$ |

Imprecisión (CLSI, EP5-A2)

Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días. Ambas ejecuciones de precisión están dentro de y la precisión total fue determinada de estos datos.

Dentro de la imprecisión corriente:

| Nivel del control de calidad mg/dL | Dentro de la depleción de sustrato actual mg/dL | Dentro del CV % |
|------------------------------------|---|-----------------|
| 33,2 | 0,65 | 1,96 |
| 64,6 | 0,96 | 1,49 |
| 39,6 | 0,80 | 2,02 |

Imprecisión total:

| Nivel del control de calidad mg/dL | Imprecisión total de depleción de sustrato mg/d | Imprecisión total del CV % |
|------------------------------------|---|----------------------------|
| 33,2 | 0,84 | 2,52 |
| 64,6 | 1,41 | 1,92 |
| 39,6 | 1,20 | 3,10 |

Linealidad (CLSI, EP6-A)

Lineal desde 2 a 150 mg/dL, con base en la regresión lineal $Y = 1,026 * X + 1,741$. El rango lineal no puede extenderse sobre 150 mg/dL.

Sustancias de interferencia (CLSI, EP7-A)

Menos del 10% de interferencia fue clasificado como "interferencia no significativa".

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 500 mg/dL de hemoglobina.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 30 mg/dL de bilirrubina.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 1000 mg/dL de triglicéridos (uso de Intralipid*).

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 1500 mg/dL de N-Acetil Cisteína (NAC).

*Intralipid es una marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.^{8,9}

REFERENCIAS

1. Crouse, J.R., et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease. J. Lipid Res., 26: 566 (1985).
2. Castelli, W.P. et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
3. Romm PA., et al., *Relation of Serum Lipoprotein Cholesterol Levels to Presence and Severity of Angiographic Coronary Artery Disease*. Am. J. Cardiol. (1991) 67: 479-483.
4. Special Communication, Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), JAMA Vol 285:19, 2486-2497 (2001).
5. Warnick G.; Russell; Wood, Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clin Chem, 41:10, 1427-1433 (1995).
6. Gordon T., et al., *High Density Lipoprotein as a Protective Factor against Coronary Heart Disease: The Framingham Study*. Am J. Med. (1977) 62: 707-714.
7. Datos de los archivos de Medica.
8. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC. AACC Press, 1995.
9. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press, 1997.

Parámetros del ensayo (HDL) EasyRA

| | |
|------------------------------------|-----------------------------|
| Longitud de onda primaria (nm) | 600 |
| Longitud de onda secundaria (nm) | 700 |
| Tipo de reacción | Punto terminal especial (2) |
| Dirección de la reacción | Aumento |
| Blanco del reactivo | Sí (con cada calibración) |
| Blanco de la muestra | Sí |
| Tiempo de reacción | 10,4 min. |
| Intervalo de calibración (máximo) | 30 días |
| Estabilidad integrada del reactivo | 60 días |

Suero/Plasma

| | |
|------------------------------------|-------------------|
| Volumen de la muestra (µl) | 2,5 |
| Volumen del 1 diluyente (µl) | 15 |
| Volumen del diluyente 2 (µl) | 20 |
| Volumen del reactivo R1 (µl) | 250 |
| Volumen del reactivo R2 (µl) | 83 |
| Puntos decimales (predeterminados) | 0 |
| Unidades (valores predeterminados) | mg/dL |
| Linealidad | 2 hasta 150 mg/dL |

