

LDL-CHOLESTEROL DIRECT

REF 1142005 40 mL CONTENIDO R1.Reactivo 1 x 30 mL R2.Reactivo 1 x 10 mL	REF 1142010 320 mL CONTENIDO R1.Reactivo 3 x 80 mL R2.Reactivo 1 x 80 mL	<h2>COLESTEROL-LDL</h2> <p>DIRECTO <i>Método enzimático colorimétrico</i></p> <p>PUNTO FINAL</p>
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		

FUNDAMENTO

El ensayo LDL-C Direct es un método homogéneo para cuantificar las concentraciones de LDL-C en suero o plasma, sin la necesidad de realizar ningún pretratamiento de la muestra.

El método está formulado con dos reactivos y basado en las propiedades de un detergente único. Este detergente (Reactivo 1) no solubiliza las partículas de lipoproteína LDL. El colesterol liberado es consumido por colesterol esterasa y colesterol oxidasa en una formación sin color reacción. Un segundo detergente (Reactivo 2) solubiliza el LDL restante y un acoplador cromogénico permite la formación de color. La reacción enzimática con LDL-C en presencia del acoplador produce color, la intensidad del color formado es proporcional a la concentración de LDLc presente en la muestra ensayada.


COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

R1 **Reactivo 1.** Tampón. Detergente 1 <1%, Colesterol esterasa (*Pseudomonas* sp.) <1500 U/L, Colesterol oxidase (*Cellulomonas* sp.) <1500 U/L, Peroxidasa (*Horseradish*) <1300 ppg U/L, 4-Aminoantipyrine <0.1%, Ascorbic oxidase (*Curcubita* sp.) <3000 U/L. Conservantes.

R2 **Reactivo 2.** Tampón (pH 6.3). Detergente 2 <1%, N,N-bis (4-sulfobutyl) -m-toluidine, disodium (DSBmT) <1.0 mM. Conservantes.

CAL **Calibrador HDL/LDLc. Optativo.** Ref. 1972005. El valor de concentración es trazable al Material de Referencia Certificado NIST SRM 1951b.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar a 2-8°C. Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación durante su uso. No congelar.

Descartar si se observan signos de deterioro:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Resultados con los controles fuera del rango esperado.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

R1 y **R2** son reactivos líquidos estables, listos para su uso. Los reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad a 2-8°C. Una vez abierto, son estables 4 semanas a 2-8°C.

Calibrador HDL/LDLc. Liofilizado. Reconstituir un vial añadiendo exactamente el volumen de agua destilada indicada en la etiqueta. Mezclar con cuidado y dejar reposar 5 minutos antes de su empleo. El material reconstituido es estable 7 días a 2-8°C ó 1 mes a -20°C. Desecharlo si presenta turbidez o muestra signos de contaminación microbiana.

El calibrador ha sido preparado a partir de suero humano negativo para HBsAg, HCV y no-reactivo para anticuerpos HIV. Manejar con las mismas precauciones empleadas para las muestras.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado u obtenido con EDTA. El paciente estará en ayunas desde la noche anterior a la extracción. Separar las células dentro de las 3 horas siguientes a la venipuntura. Las muestras pueden conservarse 5 semanas a 2-8°C ó 3 meses a -20°C. No usar anticoagulantes que contengan citrato.

INTERFERENCIAS

- Ácido Ascórbico 50 mg/dL
 - Hemoglobina 500 mg/dL
 - Bilirrubina 20 mg/dL
 - Gammaglobulinas 5000 mg/dL
 - Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.
- Concentración sin interferencia significativa (± 10%).

Las muestras con valores de triglicéridos de hasta 1,293 mg / dL no interfirieron con los resultados del análisis. Muestras con niveles de triglicéridos > 1,293 mg / dL no debe diluirse.

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o colorímetro para mediciones a 546±5 nm.
- Unidad termostatizada ajustable a 37°C.
- Cubetas de 1-cm de paso de luz.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

TÉCNICA

1. Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente.
2. Pipetear en cubetas rotuladas:

Cubetas	Blanco	Muestra	Calibrador
R1	600 µL	600 µL	600 µL
Muestra	-	6 µL	-
CAL	-	-	6 µL

3. Leer la absorbancia. (Abs 1 a 546±5 nm).
4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C.
5. Añadir:

R2	200 µL	200 µL	200 µL
-----------	--------	--------	--------

6. Mezclar por completo e incubar 5 minutos adicionales a 37°C.
7. Leer la absorbancia. (Abs 2 a 546±5 nm).



CALCULOS

$$\frac{A \text{ Muestra}}{A \text{ Calibrador}} \times C \text{ Calibrador} = \text{mg/dL Colesterol-LDL}$$

Para expresar los resultados en unidades SI aplicar:
mg/dL x 0,0259 = mmol/L

Muestras superiores a 990 mg/dL de LDLc deben diluirse 1:2 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 2.

VALORES DE REFERENCIA

Grupos de riesgo clasificados según los niveles de LDL-C.

Niveles de Colesterol-LDL	RIESGO
< 100 mg/dL (2,59 mmol/L)	Muy Bajo
100 - 129 mg/dL (2,59-3,34 mmol/L)	Bajo
130 - 159 mg/dL (3,37-4,12 mmol/L)	Moderado
160 - 189 mg/dL (4,14-4,89 mmol/L)	Alto
≥ 190 mg/dL (4,92 mmol/L)	Muy alto

CONTROL DE CALIDAD

El empleo de un calibrador para calcular los resultados permite obtener una exactitud independiente del sistema o instrumento empleado.

Para un control de calidad adecuado, se incluirán en cada serie controles valorados (normales y elevados) que se tratarán como muestras problema.

Si los resultados obtenidos se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y la técnica usada.

Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

Investigaciones de laboratorio, epidemiológicas y factores genéticos del hipercolesterolemia indican que un colesterol-LDL elevado es una causa mayor de enfermedad cardíaca coronaria. La relación entre los niveles de colesterol-LDL y el riesgo de enfermedad coronaria es continuo en un amplio rango de concentraciones, aumentando el riesgo al incrementarse éstas.

Pruebas clínicas recientes muestran con firmeza que la terapia dirigida a disminuir la tasa de colesterol-LDL reduce el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria. Por estas razones el panel ATP III continúa en la identificación de tasas elevadas de colesterol-LDL como el objetivo principal de la terapia reductora de colesterol.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Límite de detección:** 6.6 mg/dL

- **Linealidad:** Hasta 990 mg/dL

- **Precisión :**

mg/dL	Intraserial			Interserial		
Media	98,1	146,5	209,8	98,1	146,5	209,8
SD	0,72	0,96	1,31	2,2	2,8	3,6
CV%	0,73	0,66	0,62	2,2	2,8	3,6
N	20	20	20	40	40	40

- **Correlación:** Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:
 $r = 0,96$ $y = 0,95x + 3.02$ mg/dL.

Las características analíticas han sido generadas usando un instrumento automático. Los resultados pueden variar según el instrumento utilizado.

NOTAS

- Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento. Consultar con su distribuidor para cualquier dificultad en la adaptación del método.
- El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

REFERENCIAS

- Gotto AM, Lipoprotein metabolism and the etiology of hyperlipidemia, Hospital Practice, 23: Suppl.1, 4 (1988).
- Crouse JR et al., Studies of low density lipoprotein molecular weight in human beings with coronary artery disease, J. Lipid Res., 26; 566 (1985).
- Badimon JJ, Badimon L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 85:1234-41 (1990).
- Castelli WP et al., Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55; 767 (1977).
- Barr DP, Russ EM, Eder HA, Protein-lipid relationships in human plasma, Am. J. Med., 11; 480 (1951).
- Gordon T. et al., High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease, Am. J. Med., 62; 707 (1977).
- William P., Robinson D., Baily A., High density lipoprotein and coronary risk factor, Lancet, 1; 72 (1979).
- Kannel WB, Castelli WP, Gordon T., Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease; New perspectives based on the Framingham study, Am. Intern. Med., 90; 85 (1979).
- National Institutes on Health publication No. 93-3095, September 1993.
- Bachorik PS et al, National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of Low-Density Lipoprotein Cholesterol; Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, No.10, (1995).
- Grundy SM et al., Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II), JAMA, 269; 23; 3015-3023 (1993).
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No.8, June 1984.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AACC Press, Washington DC, 3-104 thru 3-106, (1990).
- Tietz NW, Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Co., Philadelphia, p. 256, (1986).
- National Reference System for Cholesterol. CRMLN LDL Cholesterol Protocol, May 2004. N-geneous® is a registered trademark of Sekisui

B1142-5/1809
R1.cas

