

# COLESTEROL - HDL

## MÉTODO CON SULFATO DE DEXTRANO - Mg (II)

Para la determinación "in vitro" del colesterol - HDL en suero

### PRINCIPIO

Las fracciones LDL y VLDL de las lipoproteínas séricas (lipoproteínas de baja y muy baja densidad) se separan del suero por la acción precipitante de un polisacárido sulfatado en presencia de cationes divalentes. A continuación se cuantifica el colesterol de las lipoproteínas de elevada densidad, colesterol - HDL, presentes en el sobrenadante.

### UTILIDAD DIAGNÓSTICA

La fracción del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad es un indicador del riesgo de cardiopatías coronarias. Los niveles altos de colesterol-HDL parecen actuar como un factor de protección, mientras que los valores bajos son uno de los principales factores de riesgo.

La determinación del colesterol -HDL junto con el estudio completo del perfil lipídico del paciente, permite evaluar el riesgo de cardiopatías coronarias.

Valores bajos de colesterol-HDL se encuentran en casos de alimentación no equilibrada, sedentarismo, alcoholismo o tabaquismo

Una única prueba de laboratorio no permite establecer un diagnóstico. Los resultados se han de evaluar en el contexto de todos los datos clínicos y de laboratorio obtenidos.

### REACTIVOS

1 x 4 mL. Disolución precipitante

Ref. 99 38 85

Gotero para un mínimo de 100 determinaciones

### PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

El reactivo está listo para su uso.

### COMPOSICIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Sulfato de dextrano	10 g/L
Acetato magnésico	1 M
Estabilizantes	

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El reactivo mantenido a 2 - 8°C permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

### Indicaciones de alteración de los reactivos:

Presencia de partículas o turbidez.

### MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

Material común de laboratorio.

Centrífuga

Espectrofotómetro, analizador automático o fotómetro termostatzado a 37°C. Cubeta de 1 cm de paso de luz.

Reactivo y estándar para la determinación de colesterol. Se aconseja utilizar los reactivos QCA de referencias:

Kit 1 x 100 mL 99 52 82

Kit 3 x 100 mL 99 52 80

Kit 2 x 250 mL 99 50 12

Todos los reactivos indicados se sirven con el estándar correspondiente.

### PRECAUCIONES

Las indicaciones de seguridad se encuentran en la etiqueta de los productos.

Se aconseja consultar la ficha de datos de seguridad antes de la manipulación del reactivo.

La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

### MUESTRA

Suero. Una vez extraída la muestra, la separación de las lipoproteínas de la fracción HDL debe hacerse lo más rápidamente posible. Si no puede llevarse a cabo el mismo día, se aconseja congelarla (- 15°C). En estas condiciones, la muestra es estable una semana.

### CONTROL DE CALIDAD

Es recomendable la inclusión de sueros control, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85), en cada proceso de medida de la determinación del colesterol para verificar los resultados.

Para el control de la reacción de precipitación deben usarse sueros liofilizados o líquidos en los que las lipoproteínas se conserven en su estado nativo. Se aconseja utilizar un "pool" de sueros normales de valor conocido en HDL-colesterol.

Cada laboratorio debería establecer su propio programa de control de calidad y los procedimientos de corrección de las desviaciones en las medidas.

### AUTOANALIZADORES

La reacción de precipitación inicial no es automatizable. Las adaptaciones a distintos analizadores automáticos para la determinación del colesterol del sobrenadante de la reacción de precipitación están disponibles bajo demanda.

### PROCEDIMIENTO

#### 1. Reacción precipitante

Muestra 0,3 mL  
Disolución precipitante 1 gota  
Agitar y mantener en reposo 15 min a temperatura ambiente (20-25°C).  
Centrifugar a 2000 x g (1.500 -2.300 rpm) / 15 min ó  
Centrifugar a 10000 x g (8000 -12000 rpm) / 2 min  
Determinar la concentración de colesterol en el sobrenadante.

#### 2. Determinación de colesterol (1)

Técnica	BL (mL)	PR (mL)	ST (mL)
Sobrenadante	--	0,01	--
Estándar	--	--	0,01
Reactivo de trabajo	1,00	1,00	1,00

Mezclar e incubar durante 10 min a temperatura ambiente (20-25°C) ó 5 min a 37°C.

#### Lectura

Longitud de onda: 546; 505 nm

Blanco: el contenido del tubo BL

Estabilidad de color: un mínimo de 1 hora. (protegido de la luz solar directa).

#### CÁLCULOS

$\frac{\text{Abs. PR}}{\text{Abs. ST}} \times 200 \times 1,13 = \text{mg HDL-colesterol / dL}$

Donde:

Abs. PR: Absorción de la muestra

Abs. ST: Absorción del Standard

Unidades SI: (mg/dL) x 0,0259 = mmol/L

**Nota: Al adicionar el reactivo precipitante la muestra queda diluida por un factor de 1,13. Es por ello que para hallar el valor final de HDL - colesterol se debe multiplicar por este factor.**

(1) Usando reactivos QCA

#### VALORES DE REFERENCIA

Riesgo de enfermedades coronarias:

< 40 mg/dL

Alto

≥ 60 mg/dL

Bajo

Estas concentraciones pueden variar con la edad y el sexo.

#### PRESTACIONES. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO.

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo precipitante como del reactivo utilizado para la determinación del colesterol y del sistema de lectura manual o automático empleados.

Los siguientes datos se han obtenido de forma manual utilizando para la determinación del colesterol en el sobrenadante el reactivo QCA colesterol líquido:

Sensibilidad, como límite de detección: 3 mg/dL

Exactitud, como % de recuperación: 97,4%

Precisión en la serie, como CV%: 1,87%

Precisión entre series, como CV%: 2,22%

Veracidad. Los resultados obtenidos con el reactivo no presentan diferencias significativas al compararlo con el reactivo considerado de referencia.

Los datos detallados del estudio de las prestaciones del reactivo están disponibles bajo demanda.

#### INTERFERENCIAS

No deben utilizarse muestras envejecidas ni hemolizadas. La presencia de bilirrubina en concentraciones superiores a 9 mg/dL interfiere en la reacción de precipitación.

Sueros con niveles de triglicéridos superiores a 350 mg/dL deben diluirse 1/2 con salina (NaCl 0,9%), antes de adicionar el reactivo precipitante.

#### BIBLIOGRAFÍA

Albers, J.J., Warmick, G.R., Cheng, M.C. (1978). Lipids, 13, 926 - 932.

Benzie, I. (1979). Med. Lab. Sci., 36, 289 - 291.

Wieland, H. Seidel, D. (1981). Ärtztl. Lab., 27, 141 - 154.

A policy statement of the European Atherosclerosis Society, European Heart Journal 8,(1987) 77 - 88.

Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).

National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III), (2001) NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute.

Zapico E. y Ordóñez J. (2002), Clin Invest Ar ter ioscl;14(5):272-6.

# HDL - CHOLESTEROL

## DEXTRAN SULPHATE - Mg (II) METHOD

For "in vitro" determination of HDL - cholesterol in serum

### PRINCIPLE

LDL and VLDL (low and very low density lipoproteins) are precipitated from serum by the action of a sulfated polysaccharide, in the presence of divalent cations. Then, the cholesterol bound to high density lipoproteins (HDL- cholesterol) present in the supernatant, is determined.

### DIAGNOSTIC USE

The fraction of the cholesterol bound to high density lipoprotein is an indicator of the risk of coronary heart disease. High levels of HDL-cholesterol appear to act as a protective factor, while low values are one of the major risk factors.

Determination of HDL- cholesterol, along with comprehensive study of the lipid profile of the patient, allows assessing the risk of coronary heart disease.

Low levels of HDL- cholesterol are found in cases of unbalanced diet, sedentary lifestyle, alcoholism or smoking.

Single test result could not be used to make a clinical diagnosis. It should integrate clinical and laboratory data.

### REAGENTS

1 x 4 mL Precipitant solution  
Dropper for a minimum of 100 tests

Ref. 99 38 85

### WORKING REAGENT PREPARATION

Reagent is ready to use

### WORKING REAGENT COMPOSITION

Concentrations in the reagent solution are:

Dextran sulphate	10 g/L
Magnesium acetate	1 M
Stabilizers	

### STORAGE AND STABILITY

When kept at 2 - 8°C, the reagent will remain stable until the expiration date stated on the label.

### Signs of reagent deterioration:

Presence of particles or turbidity in the reagent.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

General laboratory equipment.  
Spectrophotometer or photometer thermostable at 37°C.  
Centrifuge.

Reagent for cholesterol determination and standard  
It is advisable to use QCA reagents:

Kit 1 x 100 mL 99 52 82  
Kit 3 x 100 mL 99 52 80  
Kit 2 x 250 mL 99 50 12

Standard is included in the kits

### CAUTION

The safety statements are on the label.  
We advise to read MSDS before reagent handling. Waste products must be handled as per local regulations.

### SAMPLE

Serum. The separation of the HDL fraction has to be carried out as soon as possible; otherwise, it is recommended to freeze the sample at - 15°C. Stored in this way, it will remain stable for up to 1 week.

### QUALITY CONTROL

Control serum, Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85) should be included in each test series for determining cholesterol.

For the precipitation reaction control, it is recommended to use liquid or lyophilized serum in which the native state of lipoproteins is retained. We recommend using a "pool" of normal sera of known value in HDL-cholesterol.

Each particular laboratory should establish its own control program.

### AUTOANALYZERS

The precipitation reaction cannot be automated  
Adaptations for cholesterol determination to different autoanalyzers are available on request.

### PROCEDURE

#### 1. Precipitation reaction:

Sample 0.3 mL  
Precipitant solution 1 drop  
Mix and let stand for 15 min at room temperature (20 - 25°C).  
Centrifuge at 2000 x g (1500 -2300 rpm) / 15 min or  
Centrifuge 10000 x g (8000 - 12000 rpm) / 2 min  
Determine, in the supernatant, the concentration of cholesterol.

#### 2.- Determination of cholesterol (1)

Technique	BL (mL)	SA (mL)	ST (mL)
Supernatant	--	0.01	--
Standard	--	--	0.01
Working reagent	1.00	1.00	1.00

Mix well and let stand for 5 min at 37°C or 10 min at room temperature.

#### Reading

Wavelength: 546 nm; 505 nm  
Blank: the contents of BL  
Colour stability: 1 hour (when protected from direct light)

#### CALCULATIONS

$\frac{\text{Abs. SA}}{\text{Abs. ST}} \times 200 \times 1.13 = \text{mg HDL- cholesterol / dL}$

Where:

Abs SA: Sample Absortion  
Abs ST: Standard Absortion

S.I. Units: mg/dL x 0.0259 = mmol / L

**Note: When the precipitant reagent is added to the sample, the latter is diluted by a factor of 1.13. Therefore, the cholesterol value should be multiplied by such a factor. (1)With QCA cholesterol reagent**

#### REFERENCE VALUES

##### Coronary heart disease risk:

< 40 mg/dL High  
≥ 60 mg/dL Low

The concentrations vary considerably with age and sex.

#### Performance characteristics

The performance characteristics depend on the precipitant reagent, the reagent to determine cholesterol and the method used. These results have been obtained by manual method. The cholesterol in the supernatant has been determinate with the reagent cholesterol Liquid from QCA.

Sensitivity, as detection limit: 3 mg/dL

Accuracy: 97.4%

Repetitivity, as CV%: 1.87%

Reproducibility, as CV%: 2.22%

Trueness: Results obtained with this reagent did not show systematic differences when compared with reference reagent.

Details of the performance studies are available on request.

#### INTERFERENCES

Neither aged nor haemolysed samples shall be assayed. Bilirubin, at concentrations higher than 9 mg/dL, interferes in the precipitation reaction.

Sera with triglycerides concentration higher than 350 mg/dL will be diluted 1/2 in saline (NaCl 0.9%) prior to precipitation.

#### BIBLIOGRAFÍA

Albers,J.J., Warmick,G.R., Cheng,M.C. (1978). Lipids, 13, 926 - 932.

Benzie,I. (1979). Med. Lab. Sci., 36, 289 - 291.

Wieland, H. Seidel, D. (1981). Ärtztl. Lab.,27, 141 - 154.

A policy statement of the European Atherosclerosis Society, European Heart Journal 8,(1987) 77 - 88.

Tietz, NW., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).

National Cholesterol Educacion Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III), (2001) NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute.

Zapico E. y Ordóñez J. (2002),Clin Invest Ar ter ioscl;14(5):272-6.

---

---

# CHOLESTÉROL - HDL

## MÉTHODE UTILISANT LE SULFATE DE DEXTRANE - Mg (II)

### Pour la détermination in vitro du cholestérol – HDL dans le sérum

#### PRINCIPE

Les fractions LDL et VLDL des lipoprotéines sériques (lipoprotéines de basse et très basse densité) se séparent du sérum par l'action précipitante d'un polysaccharide sulfaté en présence de cations divalents. On effectue ensuite la quantification du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (cholestérol - HDL) présentes dans le surnageant.

#### UTILITÉ DE DIAGNOSTIC

La fraction du cholestérol lié aux lipoprotéines de haute densité est un indicateur de risque de maladies coronariennes. Des niveaux élevés de cholestérol-HDL semblent agir comme un facteur de protection, tandis que des valeurs faibles sont l'un des principaux facteurs de risque.

La détermination des taux de cholestérol-HDL, de même que l'étude approfondie du profil lipidique du patient, permet d'évaluer le risque de maladies coronariennes.

Les faibles niveaux de HDL-cholestérol se trouvent dans les cas de déséquilibre alimentaire, la sédentarité, l'alcoolisme ou le tabagisme

Un unique test de laboratoire ne permet pas d'établir un diagnostic. Les résultats doivent être évalués dans le contexte de toutes les données cliniques et de laboratoire obtenues.

#### RÉACTIFS

1 x 4 mL Solution précipitante  
Compte-goutte pour un minimum de 100 déterminations

Réf. 99 38 85

#### PRÉPARATION DU RÉACTIF DE TRAVAIL

Le réactif est prêt à l'emploi.

#### COMPOSITION DU RÉACTIFS

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Sulfate de dextrane 10 g/L  
Acétate de magnésium 1 M  
Stabilisants

#### CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservé à 2 -8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

#### Indications d'altération du réactif:

Présence de particules et turbidité dans le réactif.

#### MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel courant de laboratoire.

Centrifuge

Spectrophotomètre, analyseur automatique ou photomètre thermostaté à 37°C. Cuvette de 1 cm de trajet de la lumière.

Réactif pour détermination du cholestérol et étalon.

Nous recommandons utiliser les réactifs QCA

Kit 1 x 100 mL 99 52 82

Kit 3 x 100 mL 99 52 80

Kit 2 x 250 mL 99 50 12

Étalon est inclus dans le kit.

#### PRÉCAUTIONS

Manipuler avec précaution. Les indications de sécurité sont sur l'étiquette des produits. On conseille de consulter la fiche des données de sécurité avant de manipuler le réactif.

L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

#### ÉCHANTILLON

Sérum. Après prélèvement de l'échantillon, séparer le plus rapidement possible les lipoprotéines de la fraction HDL. Si la séparation ne peut être effectuée le jour même, il est conseillé de congeler l'échantillon (- 15°C). Dans ces conditions, l'échantillon est stable pendant une semaine.

#### CONTRÔLE DE QUALITÉ

Nous recommandons l'inclusion des plasmas de contrôle, Seriscann normal (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85), dans chaque processus de mesure de cholestérol pour vérifier les résultats

Pour le contrôle de la réaction de précipitation il est conseillé d'utiliser des sérums lyophilisés ou liquides dans lesquels les lipoprotéines sont conservées dans leur état d'origine.

Nous vous recommandons d'utiliser un "pool" de sérums normaux de valeur connue au taux de HDL-cholestérol.

Nous suggérons que chaque laboratoire d'établir son propre programme et les procédures de correction des écarts dans les mesures de contrôle qualité.

#### ANALYSEURS AUTOMATIQUES

La réaction de précipitation ne peut pas être automatisée.

Des adaptations pour la détermination du cholestérol à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

#### TECHNIQUE

##### 1. Réaction précipitante:

Échantillon 0,3 mL  
Solution précipitante 1 goutte

Agiter et laisser reposer 15 minutes à température ambiante (20 à 25°C).

Centrifuger à 2.000 g pendant 15 minutes, ou

Centrifuger à 10.000 g pendant 2 minutes.

Déterminer le cholestérol dans le surnageant.

##### 2. Détermination du cholestérol (1)

Technique	BL (mL)	ESSAI (mL)	ÉT (mL)
Surnageant	--	0,01	--
Étalon	--	--	0,01
Réactive de travail	1,00	1,00	1,00

Mélangez bien et incubez 5 minutes à 37°C ou 10 min à température ambiante.

#### Lecture

Longueur d'onde: 546 nm; 505 nm

Blanc: Contenu BL

Stabilité de la coloration: Un minimum de 1 heure à l'abri de la lumière directe.

#### CALCULS

$\frac{\text{Abs. ESSAI}}{\text{Abs. ÉTALON}} \times 200 \times 1,13 = \text{mg HDL-Cholestérol / dL}$

Où:

Abs. ESSAI: Absorption de l'essai

Abs. ÉTALON: Absorption de l'étalon

Unités SI: (mg/dL) x 0,0259 = mmol/L

**Remarque: Lors de l'ajout du réactif de précipitation, l'échantillon est dilué dans un facteur de 1,13.**

**De sorte que la valeur de cholestérol dans le surnageant est multiplié par ce facteur.**

(1) Utilisant des réactifs QCA.

#### VALEURS DE RÉFÉRENCE

##### Risque de maladie des artères coronaires:

< 40 mg/dL Élevé  
≥ 60 mg/dL Bas

La concentration varie considérablement avec l'âge et le sexe.

#### PERFORMANCE. CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT

Le fonctionnement du produit dépend tant du solution précipitante que du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Les résultats suivants ont été obtenus avec une technique manuelle.

La sensibilité, en tant que la limite de détection: 3 mg/dL

Coefficient de variation dans la série: 1,87 %

Coefficient de variation entre les séries: 2,22 %

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 97,4 %.

Justesse. Les résultats obtenus avec le réactif ne sont pas significativement différents par rapport au réactif de référence considéré.

L'étude détaillée de la performance du réactif est disponible sur demande.

#### INTERFÉRENCE

Ne pas utiliser d'échantillons anciens ni hémolysés. La présence de bilirubine à des concentrations supérieures à 9 mg/dl interfère avec la réaction de précipitation.

Des sérums ayant des taux de triglycérides supérieurs à 350 mg/dl doivent être dilués au 1/2 avec une solution saline (NaCl 0,9 %) avant l'ajout du réactif précipitant.

#### BIBLIOGRAPHIE

Albers, J.J., Warmick, G.R., Cheng, M.C. (1978). Lipids, 13, 926 - 932.

Benzie, I. (1979). Med. Lab. Sci., 36, 289 - 291.

Wieland, H. Seidel, D. (1981). Ärtztl. Lab., 27, 141 - 154.

A policy statement of the European Atherosclerosis Society, European Heart Journal 8, (1987) 77 - 88.

Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry 5th Edition, W.B. Saunders, Philadelphia (2012).

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Young D.S., Effect of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000).

National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III), (2001) NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute.

Zapico E. y Ordóñez J. (2002). Clin Invest Ar ter ioscl; 14(5):272-8.