

COLESTEROL - HDL

METODO 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.

Reactivos

1 x 4 ml Disolución precipitante. Ref. 99 38 85
Gotero para un mínimo de 100 determinaciones.
Listo para su uso.

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.

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.

Precauciones

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

Técnica

1. Reacción precipitante:

Muestra 0,3 ml
Disol. precipitante 1 gota

Agitar y mantener en reposo 15 min. a temperatura ambiente (20 - 25°C). Centrifugar a 2.000 x g (1.500 - 2.300) / 15 min. ó 10.000 x g (8.000 - 12.000) / 2 min.
Determinar la concentración de colesterol en el sobrenadante.

2. Determinación de Colesterol (1)

	BL ml	PR ml	ST ml
Sobrenadante	--	0,01	--
Estándar	--	--	0,01
Reactivo de trabajo	1,00	1,00	1,00

Mezclar bien e incubar 5 min a 37°C o 10 min a temperatura ambiente

Lectura

Longitud de onda: Hg 546 nm; 505 nm
Blanco: Contenido de BL
Estabilidad el color: Un mínimo de 1 hora, al abrigo de la luz directa

Cálculos

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

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 multiplica por este factor.

(1) Usando reactivos QCA

Interpretación clínica.

HDL-Colesterol bajo. Aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular

Hombres < 40 mg/dL
Mujeres < 50 mg/dL

HDL-Colesterol alto. Reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular

Hombres > 60 mg/dL
Mujeres > 60 mg/dL

Según las recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis

Trastornos lipídicos

Colesterol	< 200 mg/dL	NO
Triglicéridos	< 200 mg/dL	NO

Colesterol	200 - 300 mg/dL	SI
HDL Colesterol	< 35 mg/dL	SI

Colesterol	> 300 mg/dL	SI
Triglicéridos	> 200 mg/dL	SI

Reactivos necesarios pero no suministrados con el equipo.

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.

Prestaciones. Características de funcionamiento.

Linealidad: Hasta 700 mg/dl. Para concentraciones mayores, diluir la muestra 1/2 con salina (NaCl 0,9%). Multiplicar el resultado por 2.
Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Coefficiente de Variación en la serie: 1,87%
Coefficiente de Variación entre series: 2,22%
Exactitud: 97,4 de porcentaje de recuperación.

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.

Nota

Al adicionar el reactivo precipitante, la muestra queda diluida por un factor de 1,13.
Multiplicar el valor final del colesterol por dicho factor.

Control de Calidad

Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85).

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.

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 polysaccharide, in the presence of divalent cations. Then, high density lipoproteins cholesterol (HDL-Cholesterol) present in the supernatant, is determined.

Reagents

1 x 4 ml Precipitant solution. Ref. 99 38 85
Dropper for a minimum of 100 tests.
Ready-to-use.

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.

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.

Caution

The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

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 10,000 x g (8000 - 12000 rpm) / 2 min.
Determine, in the supernatant, the concentration of cholesterol.

2.- Determination of Cholesterol. (1)

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

Calculations

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

SI Units: (mg/dL) x 0.0259 = mmol/L

Remark: 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

Clinical interpretation

Low HDL-Cholesterol. Increases the risk for heart disease.

Men < 40 mg/dL
Women < 50 mg/dL

High HDL-Cholesterol. Reduces the risk for heart disease

Men > 60 mg/dL
Women > 60 mg/dL

According to the recommendations of the European Atherosclerosis Society

		Lipid disorder
Cholesterol	< 200 mg/dL	NO
Triglycerides	< 200 mg/dL	NO
Cholesterol	200 - 300 mg/dL	SI
HDL Cholesterol	< 35 mg/dL	SI
Cholesterol	> 300 mg/dL	SI
Triglycerides	> 200 mg/dL	SI

Reagents necessary but not provided.

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

Performance Characteristics

The assay is linear up to 700 mg of Cholesterol/dl. For higher concentrations dilute the sample 1/2 with saline (NaCl 0.9%). Multiply the final result by 2.

The analytical performance characteristics of the product depend both of the reagent and the reading system used, manual or automatic. The following data have been obtained manually.

Intraseres Variation Coefficient: 1.87%

Interseries Variation Coefficient: 2.22%

Recovery: 97.4 %.

Neither aged nor hemolyzed samples shall be assayed. Bilirubin concentrations higher than 9 mg/dl will interfere the precipitation. Sera with triglycerides concentration higher than 350 mg/dl will be diluted 1/2 in saline (NaCl 0.9%) prior to precipitation.

Remark

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.

Control de Calidad

Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85).

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.



CHOLESTEROL - 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.

Réactifs

1 x 4 ml Solution précipitante. Réf. 99 38 85
Compte-goutte pour un minimum de 100 déterminations.
Prêt à l'emploi.

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 une température comprise entre 2 et 8 °C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

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.

Précautions d'emploi

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

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 soit à 2.000 g pendant 15 minutes, soit à 10.000 g pendant 2 minutes. Déterminer le cholestérol dans le surnageant.

2. Détermination du cholestérol (1)

	BL	ESSAI	ÉT
	ml	ml	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: Hg 546 nm; 505 nm

Blanc: Contenu BL

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

Calculs

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

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 le valeur de cholestérol dans le surnageant est multiplié par ce facteur.

(1) Utilisant des réactifs QCA

Interprétation clinique

Cholestérol-HDL haute. Risque accru de maladies cardiovasculaires

Hommes < 40 mg/dL
Femmes < 50 mg/dL

Cholestérol-HDL faible. Réduit le risque de maladies cardiovasculaires

Hommes > 60 mg/dL
Femmes > 60 mg/dL

Selon les recommandations de la Société européenne d'athérosclérose:

Troubles Lipidiques		
Cholestérol	< 200 mg/dL	NO
Triglycerides	< 200 mg/dL	NO
Cholestérol	200 - 300 mg/dL	SI
HDL Colesterol	< 35 mg/dL	SI
Cholestérol	> 300 mg/dL	SI
Triglycerides	> 200 mg/dL	SI

Fonctionnement et caractéristiques de performance du dispositif.

Linéarité: jusqu'à 700 mg/dl. Pour des concentrations supérieures, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution saline (NaCl 0,9 %). Multiplier le résultat par 2.

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Une technique manuelle a permis d'obtenir les données suivantes:

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 %.

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.

Remarque

Lors de l'ajout du réactif précipitant, l'échantillon est dilué par le facteur 1,13.

Multiplier la valeur finale du cholestérol par ce facteur.

Contrôle de qualité

Seriscann normal (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85).

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). Ärtzt. Lab., 27, 141 - 154.

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