

**HDL-COLESTEROL**

DIRECT

Test enzimatic colorimetric

ENDPOINT

**CONTINUT**

<b>1133505</b>	HDL-Colesterol	40 mL
<b>1133510</b>	HDL-Colesterol	320 mL
<b>1133515</b>	HDL-Colesterol	1000 mL

REF

**PRINCIPIUL**

Aceasta metoda <sup>1,2</sup> ce se foloseste in cuantificarea colesterolului in densitatea mare de lipoproteine (HDL) este un test enzimatic omogen in care precipitarea diferentiata si sedimentarea restului de lipoproteine si de chilomicroni este evitata.

Procedura consta in doua etape. In prima etapa colesterolul din lipoproteine, altul decat HDL-ul, in restul de proba este descompus de o actiune simultana a colesterolului esteraza (CE) si colesterol oxidaza (CO) la un pH 7.0 avand ca produci finali colestemon si hidrogen peroxid, ultimul fiind descompus mai departe prin cataliza in apa si oxigen.

In a doua etapa surfactantul, care reactioneaza specific asupra HDL-ului, se adauga la reactia produsului final din prima etapa acesta fiind resturi de colesterol cuantificat de o reactie de tip Trinder in care derivatul de anilina, HDAOS\*, SI 4-aminoantipirina (4-AA) ca agent de legatura sunt condensati de catre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in prezenta de peroxidaza (POD) formand astfel quinoneime de culoare rosie proportionala cu concentratia de colesterol HDL prezent in proba.

\*N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina.

**CONSTITUENTI SI COMPOZIT**

**R1 Reactiv enzima.** Solutie tampon GOOD 100 mmol/L pH 7.0, MgCl<sub>2</sub> 18 mmol/L, CE 800 U/L, CO 500 U/L, catalaza 100 KU/L, HDAOS 0.7 mmol/L.

**CAL POD/4-AA reactiv.** POD 4 KU/L, 4-AA 4 mmol/L, N<sub>3</sub>Na < 0.1%, surfactanti specifici < 1.5 % (v/v)

**R2 Apo-A<sub>1</sub>/Apo-B/HDL calibrator.**  
Optativ REF 1972005.

**CONSERVARE SI STABILITATE**

Se pastreaza la 2-8°C.

Reactivii sunt stabili pana la data expirarii inscrisa pe eticheta daca contaminarea este evitata dupa deschiderea flacoanelor

**PROBE**

Ser, EDTA sau plasma heparinizata obtinuta de la pacient dupa ce nu a mancat toata noaptea. Separati de celulele rosii intr-un interval de 3 ore de venipunctura. Probele pot fi pastrate la 4-8°C timp de 2 saptamani sau la -20°C timp de 3 luni.

**PREPARAREA REACTIVULUI**

Reactivii R1 si R2 sunt gata de a fi folositi. Stabilitatea reactivilor in analizor la 2-12°C este de 1 luna.

**Calibrator.** Reconstituiti o eprubeta adaugand exact 1.0 mL de apa distilata. Agitati usor si lasati sa stea timp de 5 minute inainte de folosinta. Materialul reconstituit este stabil timp de 7 zile la 2-8°C sau timp de 1 luna la -20°C. Aruncati materialul daca devine tulbure sau daca este vreun semn de contaminare bacteriana.

Calibratorul a fost preparat din ser uman ce s-a dovedit a fi negativ la HbsAg, HCV si nereactiv la anticorpii HIV. Umblati cu aceeaasi grija ca in cazul probelor pacientilor.

**INTERFERENTE**

- Testul un este afectat de hemoglobina (>500 mg/dL), bilirubina (>30 mg/dL) si lipide (>5g/dL).

**MATERIALE DE LUCRU**

- Fotometru sau spectrofotometru cu un compartiment de citire, termostatat setat la 37°C, cu citire la 600±1 nm.  
- Ceas de laborator  
- Cuvete cu drum optic de 1 cm  
- Pipete pentru masurarea reactivilor si a probelor.

**METODA DE LUCRU**

1. Aduceti reactivii si probele la temperatura camerei.
2. Pipetati in tuburile test:

Cuvete	Blanc	Proba	Calibrator
<b>R1</b>	300 µL	300 µL	300 µL
Proba	-	4 µL	-
<b>CAL</b>	-	-	4 µL
H <sub>2</sub> O	4 µL	-	-

3. Mixati si incubati 5 minute la 37°C.
4. Aadaugati:

<b>R2</b>	100 µL	100 µL	100 µL
-----------	--------	--------	--------

5. Amestecati.

6. Cititi la 37°C dupa 30 secunde absorbanta probei (A<sub>1s</sub>) si a calibratorului (A<sub>1c</sub>) la 600 nm fata de reactivul blanc, si dupa 3 minute cititi a doua oara absorbanta probei (A<sub>2s</sub>) si a calibratorului (A<sub>2c</sub>).

**METODA DE CALCUL**

$$\frac{A_{2s} - A_{1s}}{A_{2c} - A_{1c}} \times C_{\text{Calibrator}} = \text{mg/dL HDL colesterol}$$

**VALORI DE REFERINTA**

Valori clinice de colesterol HDL folosite in diagnosticarea grupurilor de risc.

Colesterol din lipoproteine cu o densitate ridicata		RISC
Barbati	> 55 mg/dL (> 1.42 mmol/L)	Scazut
	35-55 mg/dL (0.90-1.42 mmol/L)	Moderat
	< 40 mg/dL (<1.04 mmol/L)	Ridicat

Femei	>65 mg/dL (>1.68 mmol/L)	Scazut
	45-65 mg/dL (1.16-1.68 mmol/L)	Moderat
	< 45 mg/dL (<1.16 mmol/L)	Ridicat

### SEMNIIFICATIA MEDICALA

Nivelul de colesterol HDL scazut este un indicator independent de afectiune coronariana a inimii. La ATP III<sup>4</sup> nivelul de colesterol HDL scazut este categoric un nivel <40 mg/dL ( 1.04 mmol/L), valoare diferita de nivelul < 35 mg/dL in ATP-ul II (1993).

Colesterol HDL scazut se foloseste ca factor de risc in estimarea riscului de aparitie a afectiunilor coronariene intr-un interval de 10 ani, si are cateva cauze: un nivel de trigliceride crescut, superponderabilitatea si obezitatea, inactivitatea fizica, si diabetul de tip 2. Alte cauze sunt fumatul, consumarea unor cantitati foarte mari de carbohidrati (> 60% de calorii) si anumite medicamente cum ar fi steroidii anabolici si agentii progestionali.

### PERFORMANTELE ANALIZEI

- **Linearitate.** Pana la 200 mg/dL
- **Precizie.** Variatia coeficientului in timpul analizei (N=10) se gaseste in general cu o valoare mai mica de 3%
- **Sensibilitate:** Folosind 1:75:25 proba/reactiv la 600 nm, 50 mg/dL de colesterol va produce o absorbanta neta intre 0.050/0.090.
- **Corelare:** Aceasta analiza (y) a fost comparata cu o metoda similara comerciala (x). Rezultate obtinute:

$$r = 0.997 \quad y = 0.987 + 1.4$$

### REFERINTE

1. US Patent No.: 6,479,249 B2 (Nov 12,2002).
2. Sachiko Izawa. J.Med. and Pharm. Sci. 37 : 1325 (1997).
3. Warnick, G. and Wood, P.D. Clin. Chem. 41 : 1427 (1995).
4. SPECIAL REPORT. 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. 285 : 2486 (2001).