



# Colestat

## enzimático

Método enzimático para la determinación de colesterol en suero o plasma

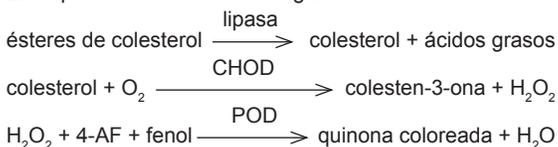
### SIGNIFICACION CLINICA

La determinación de colesterol en forma aislada tiene utilidad diagnóstica limitada. Se ha visto que el colesterol es uno de los factores contribuyentes a la formación de ateromas dado que las complicaciones arterioscleróticas prevalecen en individuos hipercolesterolémicos.

Estudios epidemiológicos demuestran que el riesgo de contraer enfermedad cardíaca coronaria para individuos de más de 40 años con colesterolemia menor a 2,10 g/l es 3 veces menor que entre individuos con más de 2,30 g/l y 6 veces menor que entre individuos con más de 2,60 g/l.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

El esquema reaccional es el siguiente:



### REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** solución de 4-aminofenazona 25 mmol/l.
- B. Reactivo B:** solución de fenol 55 mmol/l.
- C. Reactivo C:** suspensión conteniendo lipasa fungal 300 U/ml, colesterol oxidasa (CHOD) 3 U/ml y peroxidasa (POD) 20 U/ml.
- S. Standard:** solución de colesterol 2 g/l.

### Concentraciones finales

Lipasa.....	≥ 6000 U/l
CHOD.....	≥ 60 U/l
POD.....	≥ 400 U/l
4-AF.....	1,25 mmol/l
Fenol.....	2,75 mmol/l
pH.....	7,4 ± 0,1 (a t° amb.)

### REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada. Ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Standard:** mezclar por inversión antes de usar.

**Reactivo A:** listo para usar.

**Reactivo B:** listo para usar.

**Reactivo C:** homogeneizar por inversión antes de usar, evitando la formación de espuma.

**Reactivo de Trabajo:** según el volumen de trabajo colocar en una probeta 50 partes de agua destilada, 5 partes de Reactivo A, 5 partes de Reactivo B y llevar a 100 partes con agua destilada. Agregar 2 partes de Reactivo C previamente homogeneizadas.

Mezclar por inversión, sin agitar. Rotular y fechar.

Pueden prepararse distintas cantidades respetando las proporciones establecidas. Es importante además, respetar el orden de agregado de los reactivos y asegurar una perfecta homogeneización de los mismos, a fin de que el Reactivo B no deteriore el Reactivo de Trabajo.

### PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo B es irritante. H315 + H320: Provoca irritación cutánea y ocular. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No mantener a temperaturas elevadas durante lapsos prolongados. **Reactivo de Trabajo:** en refrigerador y en frasco de vidrio color caramelo es estable 1 mes a partir del momento de su preparación.

### INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Durante el uso, el Reactivo de Trabajo puede desarrollar un ligero color rosado que no afecta los resultados siempre que se procese un Blanco con cada lote de determinaciones y un Standard periódicamente. Desechar cuando las lecturas del Blanco sean superiores a 0,160 D.O. o las lecturas del Standard sean anormalmente bajas.

### MUESTRA

Suero o plasma

**a) Recolección:** se debe obtener suero o plasma de la manera usual.

**b) Aditivos:** en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda únicamente el uso de heparina como anticoagulante para su obtención.

**c) Sustancias interferentes conocidas:**

- Excepto la heparina, los anticoagulantes comunes interfieren en la determinación.
  - Los sueros con hemólisis visible o intensa producen valores falsamente aumentados por lo que no deben ser usados.
  - En sueros fuertemente hiperlipémicos puede observarse turbiedad: en tal caso, diluir el volumen final de reacción a 1/2 ó 1/3 con Blanco de reactivos, repetir la lectura y multiplicar el resultado por el factor de dilución.
  - No interfieren: bilirrubina hasta 200 mg/l, ácido ascórbico hasta 75 mg/l, ácido úrico hasta 200 mg/l, ni hemólisis ligera.
- Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el colesterol en suero es estable 1 semana en refrigerador (2-10°C) y 2 meses congelado, sin agregado de conservadores.

#### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas, pipetas y material volumétrico adecuados.
- Frasco de vidrio color caramelo.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a 37°C (opcional).
- Reloj o timer.

#### CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 505 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm).
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 15 minutos
- Volumen de muestra: 20 ul
- Volumen de Reactivo de Trabajo: 2 ml
- Volumen final de reacción: 2,02 ml

Los volúmenes de Muestra y Reactivo pueden aumentarse o disminuirse proporcionalmente (Ej.: 10 ul de Muestra + 1 ml de Reactivo de Trabajo o 50 ul + 5 ml).

#### PROCEDIMIENTO

En tres tubos de fotocolorímetro o cubetas espectrofotométricas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
<b>Standard</b>	-	20 ul	-
<b>Muestra</b>	-	-	20 ul
<b>Reactivo de Trabajo</b>	2 ml	2 ml	2 ml

Incubar 15 minutos en baño de agua a 37°C o 30 minutos a temperatura ambiente (25°C). Leer en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm) o en espectrofotómetro a 505 nm, llevando el aparato a cero con el Blanco.

#### ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de reacción final es estable dos horas, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{colesterol (g/l)} = D \times f \quad \text{donde } f = \frac{2,00 \text{ g/l}}{S}$$

#### CONVERSION DE UNIDADES

$$\begin{aligned} \text{colesterol (g/l)} &= \text{colesterol (mg/dl)} \times 0,01 \\ \text{colesterol (mmol/l)} &= \text{colesterol (g/l)} \times 2,59 \\ \text{colesterol (g/l)} &= \text{colesterol (mmol/l)} \times 0,39 \end{aligned}$$

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de colesterol, con cada determinación.

#### VALORES DE REFERENCIA

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de colesterol:

- Deseable: < 2,00 g/l
- Moderadamente alto: 2,00 - 2,39 g/l
- Elevado: ≥ 2,40 g/l

No obstante, se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos o valores de referencia.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Otras causas de resultados erróneos son:

- Los reductores disminuyen la respuesta de color mientras que los oxidantes colorean el Reactivo aumentando los Blancos. Dichos agentes son frecuentemente encontrados en el agua destilada empleada para preparar el Reactivo de Trabajo, por lo que se recomienda controlar la calidad de la misma.
- Los detergentes, metales pesados y cianuros son inhibidores enzimáticos.
- Incubación incorrecta. El nivel del agua en el baño no debe ser inferior al de los reactivos en los tubos.
- Uso del Standard de un equipo con los reactivos de otro. Los reactivos y el Standard de cada equipo forman un conjunto perfectamente controlado y estandarizado.

#### PERFORMANCE

**a) Reproducibilidad:** procesando replicados de las mismas muestras en 10 días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
1,57 g/l	± 0,033 g/l	2,32 %
2,90 g/l	± 0,065 g/l	2,23 %
4,71 g/l	± 0,102 g/l	2,13 %

**b) Recuperación:** agregando cantidades conocidas de colesterol a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 98 y 101%, para todo nivel de colesterol entre 1,90 y 4,79 g/l.

**c) Límite de detección:** depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. De acuerdo con la sensibilidad requerida, el cambio mínimo de concentración detectable para 0,001 D.O. será aproximadamente de 0,007 g/l.

**d) Linealidad:** la reacción es lineal hasta 5 g/l. Para valores superiores, diluir 1/2 con el Blanco y repetir la lectura multiplicando el resultado final por 2.

#### PRESENTACION

- 250 ml (Cód. 1220101)
- 1000 ml (Cód. 1220102)

Empleando los reactivos de **Colestat enzimático** junto con **HDL-Colesterol Reactivo Precipitante** o **HDL-Colesterol FT** y **LDL-Colesterol Reactivo Precipitante** (provistos separadamente por Wiener lab.) es posible determinar el colesterol ligado a las lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol) y a las lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol).

#### BIBLIOGRAFIA

- Allain, C.C. et al. - Clin. Chem. 20:470 (1974).
- American Health Foundation - Position statement on diet and coronary heart disease - pág. 255 (1972).
- Castelli, W.P. - Current Prescribing 6/77:39 (1977).
- Flegg, A.S. - Ann. Clin. Biochem. 10:79 (1973).
- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 87/3:459 F (1978).
- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem. 6/24 (1969).
- Coniglio R.I. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201, 1989.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

#### SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Autorizado A.N.M.A.T.  
Disp. N°: 5983/83-5660/99



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina