



## COLESTEROL HDL DIRETO

### INSTRUÇÕES DE USO

#### MÉTODO:

Enzimático/Colorimétrico

#### FINALIDADE:

Kit para a determinação quantitativa da fração HDL do Colesterol em soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### FUNDAMENTO:

Anticorpos anti beta-lipoproteína humana presentes no reagente 1, ligam-se as lipoproteínas (LDL, VLDL e Quilomicrons). A fração HDL permanece livre. Ao ser adicionado o reagente 2, apenas o colesterol HDL sofre a ação enzimática da colesterol oxidase e colesterol esterase, formando peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio em presença de peroxidase forma complexo azul ao reagir com a 4-aminoantipirina e o N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxilaniolina. A intensidade da coloração formada é diretamente proporcional a quantidade de colesterol HDL presente na amostra.

#### SIGNIFICADO CLÍNICO:

O colesterol HDL remove o colesterol dos tecidos e o transporta até o fígado onde é metabolizado em ácidos biliares. O HDL é um fator de proteção se seus valores estiverem dentro dos limites desejáveis. Evidências clínicas indicam que existe uma forte correlação inversa entre os níveis de colesterol HDL e o risco de aterosclerose. As demais frações, LDL e VLDL são fatores de risco quando acima do desejável e estão relacionados a elevação do risco de aterosclerose. Exercícios físicos podem elevar a concentração da fração HDL do colesterol e reduzir as demais.

#### IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2 e 8 °C.

#### Reagentes:

**R1 - ENZIMÁTICO:** Tampão Good, pH 6,6 100mmol/L; Cloreto de sódio 170 mmol/L; Colesterol esterase 1,5KU/L, Colesterol oxidase 1,0 KU/L; Catalase 1,0KU/L; Ascorbato Oxidase 3,5KU/L; N-(2-hidroxi-3-sulfopronil)-3,5-dimetoxianilina (HDAOS) 0,6mmol/L, anticorpos anti beta-lipoproteína humana 5,0 mL/L.

**R2 - SUBSTRATO:** Butanol 10% v/v; Triton X100 0,1%v/v; em concentração equivalente a 20 mg/dL de HDL colesterol

**R3 - CALIBRADOR:** Soro Bovino e azida sódica 0,095%. Material liofilizado. O valor da concentração está impresso no rótulo do frasco.

#### ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados nas temperaturas indicadas acima se bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso. O calibrador após reconstituído deve ser armazenado entre 2 e 8 °C por até 10 dias ou 30 dias a -20 °C.

#### TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

#### TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado sob as condições de temperatura descritas acima e em sua embalagem original.

#### PREPARO DOS REAGENTES:

Os reagentes R1 e R2 estão prontos para uso. O calibrador deve ser reconstituído adicionando-se 1,0 mL de água deionizada e agitar cuidadosamente. Aguardar 30 minutos e agitar cuidadosamente por inversão.

#### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele, mucosas e olhos. Se em contato, enxaguar abundantemente com água e consultar um médico;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- A limpeza dos materiais utilizados é de grande importância. A vidraria utilizada deve ser criteriosamente limpa e seca;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

#### MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostator na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro;

#### AMOSTRAS BIOLÓGICAS

- **SORO e PLASMA**

A amostra é estável por até 3 dias se conservada entre 2 e 8 °C, ou 30 dias se armazenada a -20 °C. É necessário jejum de 12 horas antes da coleta da amostra.

#### INTERFERÊNCIAS

Valores de anticoagulantes acima de EDTA-2Na > 1000mg/L, Na-CITRATO > 5000 mg/L; Heparina > 750 mg/L; NaF > 2000 mg/L e Na-Oxalato > 3000 mg/L interferem na dosagem.

#### PROCEDIMENTO DO TESTE

##### 1. Observações:

- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro. Deve-se tomar extremo cuidado com resíduos de detergente na vidraria;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

##### 2. Leitura do teste:

- Comprimento de onda: 570 a 610 nm;
- Cubeta: 1 cm;
- Temperatura: 37 °C;
- Medida: Contra o reagente branco. Somente um reagente branco por série é necessário.

##### 3. Esquema de pipetagem

Pipetar dentro das cubetas ou tubos.

	Branco	Amostra/Calibrador
Amostra/Calibrador	-	10 µL
Água Deionizada	10 µL	-
R1 - Enzimático	750 µL	750 µL
Homogeneizar e incubar a 37 °C por 5 minutos.		
R2 - Substrato	250 µL	250 µL

Homogeneizar suavemente e incubar a 37 °C por 5 minutos. Ler as absorbâncias do calibrador e amostras contra o reagente branco.

##### 4. Cálculos

$$A_{amostra/cal} = (A_{amostra/cal} - A_{branco})$$

$$C_{amostra} = C_{cal} \times \frac{A_{amostra} \text{ (mg/dL)}}{A_{calibrador}}$$

Utilizando fator de calibração (FC):

$$FC = C_c/A_c$$

##### 4.1 Exemplo com calibrador:

Ccal = 50 mg/dL;  
Abranco = 0,061;  
Aamostra = 0,213;  
ACal = 0,184;

$$C_{amostra} = 50 \times \frac{(0,213 - 0,061)}{(0,184 - 0,061)}$$

$$C_{amostra} = 50 \times \frac{0,151}{0,123} = 61,4 \text{ mg/dL}$$

##### 4.2 Exemplo com fator de calibração:

Ccal = 50 mg/dL;  
Abranco = 0,061;  
Aamostra = 0,213;  
ACal = 0,184;

$$FC = \frac{50}{(0,184 - 0,061)} = 406,5$$

$$C_{amostra} = 406,5 \times (0,213 - 0,061) = 61,4 \text{ mg/dL}$$

#### CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO:

O kit para o dosagem de Colesterol HDL da VIDA Biotecnologia foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes dentre essas soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

##### 1. Linearidade da reação:

A reação é linear até a concentração de Colesterol HDL de 150 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com solução de Cloreto de Sódio a 0,9% e efetuar nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado. Recomenda-se inicialmente a diluição 1+1.

## 2. Valores de referência

<35mg/dL (<0,9mmol/L) fator de risco para doença coronariana  
>60mg/dL (>1,54mmol/L) risco reduzido para doença coronariana

Estes valores devem ser utilizados como orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

## 3. Sensibilidade

0,905 mg/dL de Colesterol HDL.

## 4. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Colesterol HDL Direto da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

### 4.1 Repetibilidade

	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	30	64,91	0,28	0,43%
SC2	30	129,57	1,09	0,84%
SC3	30	52,19	0,73	1,39%

### 4.2 Reprodutibilidade

	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	10	61,72	0,47	0,76%
SC2	10	132,71	1,58	1,19%
SC3	10	58,19	0,82	1,41%

## 5. Controle de Qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Colesterol HDL Direto da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo em mg/dL	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	62,3	63,8	102,4%
SC2	53,7	55,2	102,7%

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método Enzimático direto pode ser empregado.

## APRESENTAÇÃO DO KIT

CATÁLOGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/250-080	R1 - ENZIMÁTICO	1 X 60,0 mL	80
	R2 - SUBSTRATO	1 x 20,0 mL	
	R3 - CALIBRADOR	1 x 1,0 mL	
100/250-240	R1 - ENZIMÁTICO	2 X 90,0 mL	240
	R2 - SUBSTRATO	2 x 30,0 mL	
	R3 - CALIBRADOR	1 x 1,0 mL	

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - SACHIKO, I. et al. A new direct method for measuring HDL-cholesterol which does not produce any biased values. J. Med. Pharm. Sci. v.37, p.1385-1388, 1997.
- 2 - GORDON, T. et al. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease - The

- Framingham study. Am J. Med. v.62, n.5, p.707-714, 1977.
- 3 - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose. Arq. Bras. Cardiol. v.77, supl. III p.1-48, 2001.
  - 4 - YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
  - 5 - WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981

## INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

## PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia Ltda

CNPJ: 11.308.834/0001-85  
Avenida José Cândido da Silveira 2100 - Horto Florestal - CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais - [www.vidabiotecnologia.com.br](http://www.vidabiotecnologia.com.br)

Departamento de Serviços Associados | (31)34663351;  
[dsa@vidabiotecnologia.com.br](mailto:dsa@vidabiotecnologia.com.br)

Resp Técn.: Renato Silva CRBIO4 - 57360/04-D  
Reg. M.S. 80785070043

Rev.: 02/2016

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote