



COLESTEROL HDL ENZIMÁTICO

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Enzimático/Colorimétrico.

FINALIDADE:

Reagente para a determinação quantitativa da fração HDL do Colesterol em soro ou plasma.

FUNDAMENTO:

Na presença de ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio ocorre a precipitação dos quilomícrons e das frações VLDL e LDL do colesterol. Após centrifugação a fração ligada a lipoproteínas de alta densidade permanece no sobrenadante. Essa fração deve ser determinada com o kit para a Colesterol Enzimático da VIDA Biotecnologia.

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 15 e 30 °C.

Reagentes:

R1 - PRECIPITANTE: Ácido Fosfotúngstico 0,55 mmol/L, Cloreto de Magnésio 25 mmol/L

R2 - PADRÃO: Colesterol 40 mg/dL ou 1,034 mmol/L corrigido no final da reação e azida sódia 0,09%.

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.

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 estão prontos para uso.

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;
- Cronômetro;
- Centrífuga

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

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

INTERFERÊNCIAS

Hemoglobina > 100 mg/dL, bilirrubina > 12 mg/dL, ácido ascórbico > 4 mg/dL e triglicérides > 400 mg/dL interferem com os resultados. Amostras hemolisadas, ictéricas, lipêmicas e de pacientes que fazem ingestão de vitamina C não devem ser utilizadas.

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: 500 nm, Hg 546 nm;
- Cubeta: 1 cm;
- Temperatura: 37 °C;
- Medida: Contra o reagente branco. Somente um reagente branco por série é necessário.

3. Precipitação

Pipetar em tubos de centrífuga.

Amostra	250µL
Precipitante	250µL

Homogeneizar bem e deixar em repouso em temperatura ambiente por 10 minutos. Centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos ou 2 minutos a 10000 rpm para se obter um sobrenadante límpido. Recolher o sobrenadante. Realizar a dosagem do colesterol

imediatamente utilizando o kit de Colesterol Total Enzimático da VIDA Biotecnologia.

4. Reação Enzimática

Pipetar dentro das cubetas ou tubos.

	Branco	Amostra	Padrão
Amostra (sobrenadante)	-	100µL	-
R2 - Padrão	-	-	100µL
R1 - Monoreagente (Colesterol Total)	1000µL	1000µL	1000µL

Homogeneizar bem e incubar por 10 minutos a 37 °C. Medir a absorbância do padrão (Ap) e da amostra (Aa) frente ao branco em 500 nm. A cor é estável por até 60 minutos.

5. Cálculos

Ap = Absorbância do padrão;

Aa = Absorbância da amostra;

Cp = Concentração do padrão (g/dL)

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = (Aa/Ap) \times Cp^*$$

*40 equivale ao valor do padrão (20 mg/dL) corrigido de acordo com o fator de diluição 1:2 utilizado na precipitação.

Utilizando fator de calibração (FC):

FC = Cp/Ap

Albumina = Aa x FC µg/dL

5.1 Exemplo com padrão: *8

Ap = 0,302;

Aa = 0,247;

Cp = 40,0 mg/dL

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = (Aa/Ap) \times Cp^*$$

$$\text{Colesterol HDL} = (0,247/0,302) \times 40 = 32,7 \text{ mg/dL}$$

5.2 Exemplo com fator de calibração:

Ap = 0,302;

Aa = 0,247;

Cp = 40,0 mg/dL

$$FC = 40,0/0,302 = 132,45$$

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = 0,247 \times 132,45 = 32,7 \text{ mg/dL}$$

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO:

1. Linearidade da reação:

A reação é linear até a concentração de Colesterol HDL de 200 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

Faixa Etária	Valor (mg/dL)	Resultado
Até 10 anos	≥ 40	Desejável
De 10 a 19 anos	≥ 35	Desejável
Adultos	< 40	Baixo
	40 a 59	Aceitável
	≥ 60	Desejável

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

3. Sensibilidade

0,145 mg/dL de Colesterol HDL.

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.

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 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	63,47	0,32	0,50%
SC2	30	126,42	1,13	0,89%
SC3	30	55,28	0,85	1,53%

4.2 Reprodutibilidade

	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	10	62,17	0,51	0,82%
SC2	10	127,14	1,45	1,14%
SC3	10	58,19	0,97	1,67%

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 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	62,9	101%
SC2	53,7	54,2	99%

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

APRESENTAÇÃO DO KIT

CATÁLOGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/260-100	R1 - PRECIPITANTE	1 X 25,0 mL	100
	R2 - PADRÃO	1 x 3,0 mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURSTEIN, M.; SCHOLNICK, H. R.; MORFIN, R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. J. Lipid Res. v.11, p.583-595, 1970.
- KOSTNER, G.M. et al. Determination of high-density lipoproteins: screening methods compared. Clin. Chem. v.25, n.6, p.939-942, 1979.
- GROVE, T. H. Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with

sodium phosphotungstatemagnesium. Clin. Chem. v.25, p.560-564, 1979.

4- WARNICK, R.G.; NGUYEN, T.; ALBERS, A. A. Comparison of Improved Precipitation Methods for Quantification of High-Density Lipoprotein Cholesterol. Clin. Chem. v.2, p.217, 1985.

5- 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.

6- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.

7- 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

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

Resp Técn.: Renato Silva CRBIO4 - 57360/04-D
Reg. M.S. 80785070036

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