



## COLESTEROL TOTAL ENZIMÁTICO

### INSTRUÇÕES DE USO

#### MÉTODO:

Teste enzimático e colorimétrico para a determinação do Colesterol no soro. Reagente com FCL (Fator Clareante de Lípidos).

#### FINALIDADE:

Kit para a determinação quantitativa do colesterol no soro e plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### FUNDAMENTO:

A enzima colesterol esterase no reagente hidrolisa os ésteres de colesterol presentes na amostra do paciente, o que produz o colesterol livre. A enzima colesterol oxidase presente no reagente em presença de oxigênio catalisa a oxidação do colesterol livre o que leva a produção do peróxido de hidrogênio. A enzima peroxidase também presente no reagente catalisa a reação de oxidação do fenol pelo peróxido de hidrogênio formado em presença de 4-aminoantipirina, produzindo um composto rosa com absorção máxima em 505nm. A concentração desse composto (quinonimina) e consequentemente a intensidade da cor são diretamente proporcionais a concentração de colesterol na amostra.

Éster de Colesterol + H<sub>2</sub>O → Colesterol + Ac. Graxo;

Colesterol + ½ O<sub>2</sub> → Colestenona + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;

2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4-Aminoantipirina + Fenol → Quinonimina + 4H<sub>2</sub>O

#### SIGNIFICADO CLÍNICO:

O Colesterol é um componente estrutural das paredes das membranas celulares e precursor de ácidos biliares e hormônios esteroidais. O risco cardiovascular de um paciente está diretamente ligado ao seu colesterol sérico, principalmente as frações HDL e LDL que apresentam ação direta na formação de ateromas. O colesterol total engloba todo o colesterol ligado as várias lipoproteínas, sendo cerca de 60 a 70% transportados pela LDL, 20 a 35% pela HDL e 5 a 12% pela VLDL.

A elevação do Colesterol Total pode ser encontrada em hepatites viróticas, cirrose porta, síndrome nefrótica, diabetes mellitus, hipotireoidismo, hipercolesterolemia familiar, hipercolesterolemia poligênica, gota, aterosclerose, anorexia nervosa, Síndrome de Cushing e uso de corticosteroides.

A redução do Colesterol Total pode ser encontrada em hepatopatias graves, inanição, septicemia, hipertireoidismo, má nutrição, anemia perniciosa, anemia hemolítica, anemia hipocrômica severa, grandes queimaduras e doenças infecciosas agudas.

#### IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2° e 8°C.

**R1 - ENZIMÁTICO:** Tampão fosfato (pH 6,5) 100mmol/L, 4-aminoantipirina 0,3mmol/L, fenol 5mmol/L, peroxidase >5Ku/L, colesterol esterase > 150U/L, colesterol oxidase > 100U/L, azida sódica 0,09%.

**R2 - SOLUÇÃO PADRÃO:** Colesterol 200mg/dL ou 5,17 mmol/L, azida sódica 0,09%.

#### ESTABILIDADE:

A Solução Reagente e o Padrão estão prontos para uso, não é necessário preparar os reagentes. Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados a temperatura de 2 a 8 °C, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso. Após aberto o frasco, o reagente é estável por 12 semanas quando armazenado entre 2 a 8 °C, e por 2 semanas entre 15 e 25 °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.

#### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. O reagente possui azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- 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;
- 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 termostático na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro;

#### AMOSTRAS BIOLÓGICAS

- **SORO, PLASMA (heparinizado ou EDTA)**

O soro deve ser separado até 2 horas após a coleta. Se armazenado sob refrigeração de 2 a 8 °C, o colesterol é estável por até 72 horas. Se armazenado abaixo de -20 °C, o Colesterol é estável por até 60 dias.

#### INTERFERÊNCIAS

O uso de anticoagulantes pode ocasionar resultados falsamente diminuídos. Hemoglobina > 400mg/dL, Bilirrubina > 30mg/dL e Triglicérides > 2000mg/dL interferem nos resultados. Esteróides anticoncepcional oral e aspirina podem causar valores falsamente elevados. Heparina, hipoglicemiantes e ácido ascórbico podem causar valores falsamente diminuídos.

#### PROCEDIMENTO DO TESTE

##### 1. Observações

- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao dos

reagentes nos tubos;

- 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;
- 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. Termostatizar o reagente

Ajustar a temperatura do banho-maria ou termostático para 25 °C ou 37 °C. A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste.

##### 3. Leitura do teste

Comprimento de onda: 500nm, Hg 546nm;

Cubeta: 1cm;

Temperatura: 25 °C ou 37 °C;

Medição: Zerar a absorbância contra branco. É necessário apenas um branco por bateria de testes.

##### 4. Procedimento

Pipetar na cubeta	Branco	Amostra/Padrão
Amostra ou Padrão	---	10µL
R1 - Enzimático	1000µL	1000µL

O reagente deve ser homogeneizado e imediatamente incubado por 10 minutos a 25 °C ou a 5 minutos a 37 °C. A absorbância deve ser lida dentro de 60 minutos contra o reagente branco.

##### 5. Cálculos:

Colesterol (mg/dL) = (Absorbância da amostra / Absorbância do Padrão) X Concentração Padrão (mg/dL)

Fator de Calibração (Fc) = Concentração do Padrão (mg/dL) / Absorbância do Padrão

Colesterol (mg/dL) = Absorbância da Amostra x Fc

##### 5.1 Exemplo com Padrão

Concentração do Padrão: 200mg/dL

Absorbância da Amostra: 0,194

Absorbância do Padrão: 0,207

Colesterol (mg/dL) = (0,194 / 0,207) x 200 = 187mg/dL

##### 5.2. Exemplo com Fator de Calibração

Fc = 200 / 0,207 = 966

Colesterol (mg/dL) = 0,187 x 966 = 181mg/dL

#### CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

##### 1. Linearidade da reação:

A linearidade do método é de até 800mg/dL. Para amostras com concentrações mais elevadas, diluir as amostras com 1 + 2 com solução salina a 0,9% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado por 3.

## 2. Valores de referência

Faixa Etária	Valor (mg/dL)	Interpretação
2 a 19 anos	< 170	Desejável
	De 170 a 199	Limitrofe
	> 200	Elevado
20 anos ou mais	< 200	Desejável
	De 200 a 239	Limitrofe
	> 240	Elevado
Dados das Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose - 2001		

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

## 3. Sensibilidade

4,023mg/dL

## 4. Comparação de métodos

O kit para o doseamento do Colesterol 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.

## 5. 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 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.

### 5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	30	140,2	5,61	4,00
SC2	30	191,5	4,30	2,25
SC3	30	285,0	20,22	7,10

### 5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	10	149,6	3,00	1,98
SC2	10	197,1	5,29	2,65
SC3	10	295,9	2,42	0,81

## 6. 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 da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	144	140	97,2
SC2	196	191,3	97,6
SC3	297	285	96,0

Todo soro controle com valores determinados para o Colesterol, pelo método enzimático-colorimétrico, pode ser utilizado.

## APRESENTAÇÃO DO KIT

CATÁLOGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/280-200	R1-ENZIMÁTICO	2 X 100mL	200
	R2-PADRÃO	1 x 3mL	
100/280-500	R1-ENZIMÁTICO	2 X 250mL	500
	R2-PADRÃO	1 x 3mL	

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1-Y. Morishita; Y. Iinuma; N. Nakashima; K. Majima; K. Mizuguchi; Y. Kawamura, Total and Pancreatic Amylase Measured with 2-Chloro-4-nitrophenyl-4-O- $\alpha$ -D-galactopyranosylmaltoside, Toyobo Biochem (Enzymes and Protein Markers) N° 3026. Clinical Chemistry 46:7 2000.

2-Henry, T.J.; Clin.Chem. - Principles and Procedures 4ª Ed. Little, Brown and Company.

3-Mota VT. Bioquímica Clínica: Métodos e Interpretações. Porto Alegre, Ed. Médica Missau. 1999.

4- Toyobo Enzymes 2002 - 2003, Toyobo Biochem (Carbohydrate Research 303) N° 3026 - Elsevier Science ltd 1997.

## 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.

N° DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

## PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia

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.: 80785070014

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