



COLESTEROL TOTAL ENZIMÁTICO

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Teste Enzimático Colorimétrico para a determinação de Colesterol. Reagente com FCL (Fator Clareante de Lipídeos).

FINALIDADE:

Kit para a determinação quantitativa do colesterol no soro. 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 (quinoneimina) e consequentemente a intensidade da cor são diretamente proporcionais a concentração de colesterol na amostra.



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 às 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: Pipes 100 mmol pH 7,0; Colato de Sódio 8 mmol/L; colesterol Esterase (CHE) > 750 U/L; Colesterol Oxidase > 200 U/L; Peroxidase > 2000 U/L; 4-aminoantipirina 0,6 mmol/L; fenol 20 mmol/L; azida sódica 0,05% p/v;

R2- Padrão: Butanol 10% v/v; Triton X-100 0,1% v/v; em concentração equivalente a 200 mg/dL de Colesterol.

ESTABILIDADE:

O Reagente Enzimático e o Padrão estão prontos para uso. 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 e 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 entre 2 e 8 °C 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.
- O R1 – Enzimático não deve ser utilizado quando sua absorvância medida contra água em 505nm apresentar resultado superior a 0,300 e também quando apresentar turbidez ou sinais de contaminação;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

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

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

• SORO

O soro deve ser separado até 2 horas após a coleta. Se armazenado sob refrigeração 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.

Esteroides 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. Termostatar o reagente

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

3. Leitura do teste

Comprimento de onda: 500 nm, Hg 546 nm;

Cubeta: 1 cm;

Temperatura: 25 °C ou 37 °C;

Medição: Zerar a absorvância 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 5 minutos a 37 °C. A absorvância deve ser lida dentro de 60 minutos contra o reagente branco.

5. Cálculos:

$\text{Colesterol(mg/dL)} = (\text{Absorvância da amostra}/\text{Absorvância do Padrão}) \times \text{Concentração Padrão(mg/dL)}$

$\text{Fator de Calibração (Fc)} = \text{Concentração do Padrão(mg/dL)} / \text{Absorvância do Padrão}$

$\text{Colesterol(mg/dL)} = \text{Absorvância da Amostra} \times \text{Fc}$

5.1 Exemplo com Padrão

Concentração do Padrão: 200mg/dL

Absorvância da Amostra: 0,194

Absorvância do Padrão: 0,207

$\text{Colesterol(mg/dL)} = (0,194/0,207) \times 200 = 187 \text{ mg/dL}$

5.2. Exemplo com Fator de Calibração

$\text{Fc} = 200/0,207 = 966$

$\text{Colesterol (mg/dL)} = 0,187 \times 966 = 181 \text{ mg/dL}$

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação:

A linearidade do método é de até 800 mg/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

Lípides	Com jejum	Sem jejum	Referencial
Colesterol Total †	< 190	< 190	Desejável
HDL-C	> 40	> 40	Desejável
Triglicérides	< 150	> 175 ‡	Desejável
LDL-C	< 130	< 160	Baixo
	< 100	< 100	Intermediário
	< 70	< 70	Alto

	< 50	< 50	Muito Alto
Não HDL-C	< 160	< 160	Baixo
	< 130	< 130	Intermediário
	< 100	< 100	Alto
	< 80	< 80	Muito Alto
† Colesterol total > 310 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar; ‡ Quando os níveis de triglicérides estiverem acima de 440 mg/dL (sem jejum) o médico solicitante faz outra prescrição para a avaliação de triglicérides com jejum de 12 horas e deve ser considerado um novo exame de triglicérides pelo laboratório clínico. Valores de referência e de alvo terapêutico de acordo com o risco cardiovascular estimado para adultos com mais de 20 anos.			

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

3. Sensibilidade

4,023 mg/dL

4. Comparação de métodos

O kit para dosagem 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.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	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	
100/280-1000	R1-ENZIMÁTICO	2 X 500mL	1000
	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- α -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.
- 5- Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose. Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2017 ;30 (VI): 466 – 468 Tabela 1.

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 E 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

Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D

Reg. M.S.: 80785070014

Rev.: 01/2022

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