

# COLESTEROL HDL DIRETO

## MÉTODO:

Teste homogêneo direto (enzimático colorimétrico).

## FINALIDADE:

Teste enzimático homogêneo para a determinação quantitativa de colesterol HDL (HDL).

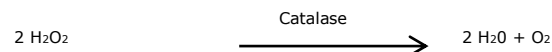
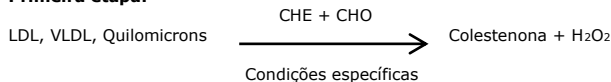
Somente para diagnóstico de uso in vitro.

## FUNDAMENTO:

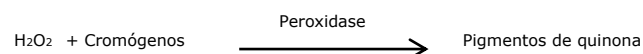
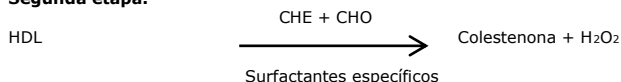
O teste combina duas etapas específicas: na primeira etapa os quilomicrons, colesterol VLDL e colesterol LDL são especificamente eliminados e destruídos por reações enzimáticas. Na segunda etapa, o colesterol remanescente da fração HDL é determinado por reações enzimáticas específicas bem estabelecidas na presença de surfactantes específicos para HDL.

## Reações principais:

### Primeira etapa:



### Segunda etapa:



## SIGNIFICADO CLÍNICO:

O Colesterol HDL Direto é um teste homogêneo enzimático para a determinação quantitativa de Colesterol HDL (HDL). HDL é considerado um componente lipídico protetor contra a doença coronária cardíaca (DCC). Junto com o Colesterol LDL, possui importância diagnóstica para estimar o risco individual para DCC.

## IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

**ENZ Enzima:** Contém Tampão de Good, pH 6,6 (25°C) 100 mmol/L; Cloreto de sódio 170 mmol/L; Colesterol-esterase 1400 U/L; Colesterol oxidase 800 U/L; Catalase 600 kU/L; Ascorbato oxidase 3000 U/L; N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina (HDAOS) 0,56 mmol/L.

**SUB Substrato:** Contém Peroxidase 3500 U/L; 4-Aminoantipirina 4 mmol/L; Tampão de Good, pH 7,0 (25°C) 100 mmol/L; Azida sódica 0,05%.

**CAL Calibrador:** Liofilizado. Contém soro matriz humana, Colesterol-HDL (concentração variável de lote a lote). Potencialmente infectante.

## PRECAUÇÕES:

- Usar roupas de proteção e luvas descartáveis e manusear os reagentes de acordo com as Boas Práticas de Laboratório
- Todo material contaminado com amostras dos pacientes ou com o **CAL** devem ser inativados por autoclavagem (60 min. a 121°C) ou por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 5% por no mínimo 60 minutos.
- Cada unidade doadora de sangue humano utilizado no preparo do **CAL** foi testada e se encontrou negativa para a presença de anticorpos HIV-1/2; HCV e HBsAg. Apesar de terem sido utilizados testes validados com alto grau de confiabilidade, nenhum deles pode assegurar que produtos que contenham derivados de fluidos humanos sejam incapazes de provocar doenças. Portanto, os cuidados habituais de biossegurança devem ser aplicados na manipulação desse produto. Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugere-se utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para preservação ambiental.
- Não aspirar os reagentes. Evitar contato com a pele e mucosas. Todas as amostras de pacientes devem ser tratadas como potencialmente infectantes. Os reagentes irritam os olhos a pele e mucosas. Em caso de contato, lavar cuidadosamente com água em abundância. Procurar um médico.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

## PREPARO DOS REAGENTES E ESTABILIDADE:

### ENZ e SUB:

Estão prontos para uso.

**Estabilidade:** Os reagentes são estáveis, mesmo depois de abertos, até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 a 8°C. Evitar contaminação. Não congelar. Não misturar as tampas. Proteger ENZ da luz.

### Calibrador:

Reconstituir o conteúdo do frasco com exatamente 1 mL de água recém destilada. Fechar o frasco e homogeneizar cuidadosamente até dissolver todo o liofilizado. Evitar formação de espuma. Antes de usar, deixar em repouso em temperatura ambiente por 30 minutos antes do uso, protegido da luz.

**Estabilidade:** 10 dias entre 2 a 8°C. Se necessário, o calibrador preparado recentemente pode ser dividido em alíquotas e mantido em refrigerador a -20°C por no máximo 30 dias. Congelar e descongelar somente uma vez. Homogeneizar cuidadosamente após descongelamento.

### AMOSTRA:

SORO E PLASMA.

**Estabilidade:** Recomenda-se realizar o teste logo após a obtenção da amostra. Caso contrário armazenar o soro ou plasma a -20°C (até várias semanas; evitar congelar e descongelar repetidamente).

No plasma as seguintes concentrações de anticoagulante não devem ser excedidas: EDTA-2Na <1000 mg/L; Na-Citrato <5000 mg/L; heparina <750 md/L; NaF <2000 mg/L; Na-Oxalato <3000 mg/L.

## TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. 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 como descrito acima e em sua embalagem original.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Banho ou incubador

## MÉTODO DE ANÁLISE:

### A. Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: Hg 578 nm, 593 nm (570 a 610 nm)

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 37°C

Medida: contra reagente branco. Somente um reagente branco é necessário por série.

### B. Procedimento:

Aquecer os reagentes e as cubetas em 37°C. A temperatura deve ser mantida constante ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) durante a realização do teste.

Pipetar na cuvetas	Reagente Branco (RB)	CAL/Amostra
Água	10 $\mu\text{L}$	--
CAL/Amostra	---	10 $\mu\text{L}$
ENZ	750 $\mu\text{L}$	750 $\mu\text{L}$
Homogeneizar gentilmente e incubar por <b>exatamente 5 minutos a 37°C.</b>		
SUB	250 $\mu\text{L}$	250 $\mu\text{L}$
Homogeneizar gentilmente, incubar a 37°C e ler a absorbância do CAL e das amostras contra o RB depois de 5 minutos.		

## CÁLCULO DOS RESULTADOS:

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

$$\Delta A_{\text{amostra/CAL}} = (A_{\text{amostra/CAL}} - A_{\text{branco}})$$

$$\text{Fator de conversão: } C \text{ (mg/dL)} \times 0,02586 = C \text{ (mmol/L)}$$

### Exemplo:

$$C_{\text{calibrador}} = 50 \text{ mg/dL}$$

$$A_{\text{branco}} = 0,057$$

$$A_{\text{amostra}} = 0,206$$

$$\Delta A_{\text{amostra}} = 0,149$$

$$A_{\text{CAL}} = 0,182$$

$$\Delta A_{\text{CAL}} = 0,125$$

$$C_{\text{amostra}} = 50 \times \frac{0,149}{0,125}$$

$$C_{\text{amostra}} = 59,6 \text{ mg/dL}$$

## CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle humano contendo valores determinados pelo método enzimático colorimétrico homogêneo direto para o colesterol HDL pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controle SERODOS.

## AUTOMAÇÃO:

Este método pode ser realizado no modo de tempo fixo em analisadores. Aplicações para equipamento semi-automáticos e automáticos serão fornecidas quando solicitadas. Cada laboratório será responsável pela validação da aplicação.

## VALORES DE REFERÊNCIA:

< 40 mg/dL (< 1,03 mmol/L) fator de risco para DCC  
> 60 mg/dL (> 1,54 mmol/L) risco reduzido para DCC

Esta faixa é dada somente para orientação, cada laboratório deve estabelecer sua própria faixa de referência, como sexo, dieta, idade, localização geográfica e outros fatores que afetam os valores esperados.

## LINEARIDADE:

Até 150 mg/dL de HDL.

O limite de linearidade depende da aplicação específica do analisador.

Se a concentração de HDL no soro exceder a faixa de determinação, diluir a amostra 1 + 1 com salina (0,9%) e repetir o teste. Multiplicar o resultado por 2.

## REPETIBILIDADE:

AMOSTRA	MÉDIA	DP	CV%
Pool soro alto	88,5	1,09	1,23
Pool soro médio	48,2	0,35	0,73
Pool soro baixo	19,2	0,24	1,25

## REPRODUTIBILIDADE:

AMOSTRA	MÉDIA	DP	CV%
Pool soro	30,4	0,24	0,79
Controle I	37,7	0,35	0,93
Controle II	58,1	0,51	0,88

**SENSIBILIDADE:**

A faixa de 3 DP da imprecisão dia-a-dia produziu cerca de 1,1 mg/dL. Portanto, pode-se declarar uma sensibilidade analítica menor que 2 mg/dL.

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS:**

209 amostras foram determinadas pelo kit de Colesterol HDL Direto, pelo método enzimático alfa-ciclodextrina/PEG (método A), pelo método poliânion/surfactante (método B). 50 amostras foram determinadas pelo método clássico de precipitação com fosfotungstato. O kit de Colesterol HDL direto mostrou uma excelente correlação com cada um dos métodos.

$r = 0,996$

$Y = a \cdot X + b$  (método A)

$a = 0,97; \quad b = 1,25$

$Y = a \cdot X + b$  (método B)

$a = 0,97; \quad b = 4,02$

$Y = a \cdot X + b$  (método C)

$a = 1,4949; \quad b = 0,9641$

**ESTUDOS DE INTERFERÊNCIA:**

Qualquer interferência potencial influenciada pelo ácido ascórbico, hemoglobina, bilirrubina e turbidez (VLDL-colesterol e VLDL-triglicérides) foi estudada pela adição de substâncias puras em um pool de soro normal.

Os resultados demonstraram que o ácido ascórbico até 0,20%, hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 30 mg/dL, triglicérides até 1300 mg/dL mostraram uma pequena interferência. Diluir amostras com triglicérides > 1300 mg/dL com salina fisiológica (0,9%) 1 + 1 e multiplicar o resultado por 2.

Podem ocorrer falsos resultados baixos de colesterol HDL em amostras de pacientes tratados com N-acetilcisteína (NAC, o tratamento de uma overdose de paracetamol), N-acetil-p-benzoquinona imina e/ou metamizol. Coleta de sangue deve ser realizada antes da administração de metamizol.

A viscosidade do CAL deve ser levada em consideração durante a pipetagem

**APRESENTAÇÃO:**

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste
10084	ENZ	1 x 60 mL	80
	SUB	1 x 20 mL	
	CAL	1 x 1 mL	
10086	ENZ	3 x 60 mL	240
	SUB	3 x 20 mL	
	CAL	1 x 1 mL	

**DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:**

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefax (031) 30676400; e-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

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

**BIBLIOGRAFIA:**

1. NIH Publication No. 01 3305, ATP III Guidelines AT-A-Glance, May 2001
2. Gordon, T. and M., Amer. J. Med., 62,707 (1977)
3. Izawa, S. et al., J. Med. And Pharm. Sci. 37, 1385 - 1388 (1997).

**Produzido e Distribuído por** In Vitro Diagnóstica Ltda

Rua Cromita, 278, Distrito Industrial - Itabira/MG. CEP: 35903-053

Telefone: 31-3067-6400 - Fax: 31-3067-6401

e-mail: [invitroms@invitro.com.br](mailto:invitroms@invitro.com.br)

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela - CRF 4463

Reg. M.S. 10303460255 Classe de Risco: II

**SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO**

O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação