LDL CHOLESTEROL LIQUICOLOR

MÉTODO:
Enzimático Colorimétrico Homogêneo Direto.

FINALIDADE:
Teste homogêneo direto para determinação quantitativa de Colesterol-LDL em soro e plasma humano. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
As lipoproteínas de baixa densidade (LDL= Low Density Lipoproteins) são as principais proteínas de transporte do colesterol. A determinação da fração do colesterol ligado à LDL é útil na avaliação do risco de doença coronariana. A relação entre doença aterosclerótica coronariana e níveis de LDL-colesterol é significativa e direta. Seus níveis se encontram elevados na síndrome nefrótica, hipotiroidismo e icterícia obstrutiva.

FUNDAMENTO:
O LDL Cholesterol Liquicolor baseia-se em um princípio de 2 etapas. Na primeira etapa HDL-, VLDL- colesterol e quilomicons são degradados especificamente pela ação combinada de enzimas e detergentes selecionados, enquanto o LDL não é afetado. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) formado durante a primeira etapa é destruído pela ação da catalase. Na segunda etapa da reação a catalase é destruída e o LDL remanescente é transformado em colestenona e H_2O_2 pelas mesmas enzimas. O H_2O_2 formado reage com um cromógeno, N-Etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilanina (TOOS), sob a ação catalítica da peroxidase. A absorbância do quinona colorida resultante é diretamente proporcional à concentração de LDL na amostra.

1ª Etapa

HDL, VLDL e quilomícrons $\xrightarrow[\text{Cond.Específicas}]{\text{CHE + CHO}}$ Colestenona + H_2O_2

$2\ H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2\ H_2O + O_2$

2ª Etapa

LDL $\xrightarrow[\text{Surfactantes específicos}]{\text{CHE + CHO}}$ Colestenona + H_2O_2

H_2O_2 + Cromógeno $\xrightarrow{\text{Peroxidase}}$ quinona colorida

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 a 8ºC.

Reagentes	Concentração
ENZ - Enzimas	
pH 7 ± 0,2 (25°C)	
Tampão de Good	50 mmol/L
Cloreto de Magnésio	20 mmol/L
Colesterol Esterase	600 U/L
Colesterol Oxidase	500 U/L
Catalase	600 kU/L
N-(2-hydroxy-3-sulfopropil)-3-metilanilina (TOOS)	2,0 mmol/L
SUB - Substrato	
PH 7,0 (25ºC)	
Tampão de Good	50 mmol/L
Peroxidase	5000 U/L
4-Aminofenazona	4 mmol/L
Azida Sódica	0,05%

CAL - Calibrador
Matriz de Soro Humano com concentração de Colesterol LDL definida para cada lote (Concentração no rótulo). Liofilizado.
Potencialmente infectante

PRECAUÇÕES:
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes. O Reagente SUB contém azida sódica. Não ingerir ou inalar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- A rigorosa observação da temperatura, do tempo de incubação, da limpeza da vidraria, da estabilidade dos reagentes e da pipetagem é de extrema importância para se obter bons resultados.
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitem infecções, recomenda-se manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- 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.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS;
- Pipetas;
- Cronômetro;
- Banho 37ºC.

AMOSTRA BIOLÓGICA
SORO e PLASMA
- As amostras devem ser testadas preferencialmente após a coleta.
- As concentrações de anticoagulantes não devem ultrapassar os seguintes valores: EDTA-2Na < 1000 mg/L; citrato de sódio < 5000 mg/L; heparina < 750 mg/L e Na-oxal < 3000 mg/L.
- Soro pode ser armazenado por até 5 dias entre 2 a 8°C.
- Fluoreto diminui o resultado em 20 –25 % quando este é comparado com o resultado obtido com soro.

INTERFERENTES:
Diluir amostras com triglicérides > 1000 mg/dL com salina (0,9%) 1 + 1. Multiplicar o resultado por 2.

PREPARO DOS REAGENTES:
Os reagentes ENZ e SUB já estão prontos para uso.
Evitar contaminação e não misturar as tampas após abertos. Não congelar. Proteger ENZ da luz.

Calibrador: Reconstituir o conteúdo do frasco adicionando 5 mL de água destilada livre de germes e agitar cuidadosamente até completa dissolução do liofilizado. Evitar a formação de espuma e deixar o Calibrador reconstituído em repouso por 30 minutos antes de usar.

ESTABILIDADE:
Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados fechados e estocados entre 2 e 8°C. O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.
O **calibrador** permanece estável por 8 horas a 25°C, 7 dias se armazenado entre 2 a 8ºC e por 20 dias se congelado a -20°C em alíquotas. Cada alíquota deve ser congelada e descongelada para uso somente uma vez. Homogeneizar bem a alíquota descongelada antes do usá-la no teste.

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 37ºC.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PROCEDIMENTO DO TESTE:
Comprimento de Onda: Hg 578 nm, 555 nm (546 a 604 nm)
Caminho Ótico: 1 cm
Temperatura: 37ºC
Medida: contra o reagente Branco. Somente um branco é necessário por bateria de testes.

Aquecer os reagentes e as cubetas a 37°C. A temperatura deve ser mantida constante (± 0,5°C) durante todo teste.

Cubeta	Branco	Amostra/Calibrador
Água dest./deionizada	10 µL	----
Amostra/CAL	----	10 µL
ENZ	750 µL	750 µL
Homogeneizar cuidadosamente e incubar por exatamente 5 minutos a 37°C		
SUB	250 µL	250 µL
Homogeneizar cuidadosamente,incubar a 37°C e ler a absorbância Δ A do calibrador e da amostra contra o RB após 5 min. $\Delta A_{(CAL/amostra)} = A_{(CAL/amostra)} - A_{RB}$		

CÁLCULO:
Calcular a concentração da amostra como esquematizado abaixo:

$$C_{amostra} = C_{calibrador} \times \frac{\Delta A_{amostra}}{\Delta A_{calibrador}} \text{ (mg/dL; mmol/L)}$$

Fator de Conversão: C(mg/dL) x 0,02586 = C(mmol/L)

LINEARIDADE:
O teste é linear até concentração de 1000 mg/dL de LDL (Procedimento Manual). Quando o teste é feito em analisadores, o limite de linearidade depende da respectiva aplicação.
Se a concentração de LDL no soro exceder a medida máxima de leitura, diluir com salina (0,9%) na proporção de 1 + 1 e repetir o teste. Multiplicar o resultado por 2.

VALORES DE REFERÊNCIA:
Classificação Painel III Tratamento de Adultos:

Classificação	Concentração de LDL Cholesterol
Ótima	≤ 100 mg/dL; ≤ 2.59 mmol/L
Próximo ou acima de ótima	100 – 129 mg/dL; 2.59 – 3.34 mmol/L
Limítrofe	130 – 159 mg/dL; 3.36 – 4.11 mmol/L
Alta	160 – 189 mg/dL; 4.14 – 4.89 mmol/L
Muito Alta	≥ 190 mg/dL; ≥ 4.91 mmol/L

Estes intervalos são apenas para orientação. Cada laboratório deve estabelecer seu próprio valor de referência, levando em consideração fatores como idade, dieta, localização geográfica e outros capazes de afetar o resultado final.

REPETIBILIDADE:

	Pool Baixo	Pool Médio
Concentração média, (mg/dL)	84,40	142,05
Desvio Padrão (mg/dL)	1,15	1,06
CV (%)	1,36	0,75

REV. 03/23

REPRODUTIBILIDADE:

	A1 (mg/dL)	A2 (mg/dL)	A3 (mg/dL)
Concentração média, (mg/dL)	152,26	151,66	145,78
Desvio Padrão (mg/dL)	1,07	0,65	2,00
CV (%)	0,70	0,43	1,37

SENSIBILIDADE:
A sensibilidade analítica é menor do que 6 mg/dL de LDL

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS:
O kit LDL Colesterol Liquicolor foi comparado, através de métodos independentes, ao método de referência CDC e a outros kits LDL, sendo os resultados calculados através da fórmula de Fridewald.Os estudos de comparação de métodos demonstraram uma boa correlação com o método clássico, assim como com os kits de outros fabricantes.

CONTROLE DE QUALIDADE:
Todo soro controle contendo valores determinados por este método para Colesterol-LDL pode ser empregado.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores está disponível e será fornecida quando solicitada.

NOTA
Resultados baixos de colesterol LDL podem ocorrer com amostras de pacientes tratados com N-acetilcisteína (NAC, tratamento de sobredosagem de paracetamol), N-acetil-benzoquinona imina e / ou Metamizole. Amostragem de sangue deve ser realizada antes da administração de metamizol.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Cat. Nº	Reagente	Volume	Nº Teste
10094	ENZ SUB CAL	1 x 60 mL 1 x 20 mL 1 x 5 mL	80

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: **08005919186** E-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

BIBLIOGRAFIA:
1. Okada, M. *et al*.; J.Lab.Clin. Med., **132**, 195 –201 (1998).

Produzido por *Human GmbH* Max-Planck-Ring 21, D 65205, Wiesbaden, Alemanha
e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda.
Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053
Telefone: 31-3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
Reg. M.S. 10303460261 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