

COLESTEROL HDL PRECIPITAÇÃO

MÉTODO:

Enzimático Colorimétrico.

FINALIDADE:

Reagentes para a determinação da fração HDL do colesterol em soro ou plasma humano. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

Em amostras tratadas com ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio ocorre a precipitação dos quilomicrons, VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) e LDL (lipoproteína de baixa densidade). Após centrifugação, a fração HDL (lipoproteínas de alta densidade) que permanece no sobrenadante é determinada utilizando-se o kit de Colesterol Enzimático In Vitro/Human.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

O risco cardiovascular é aumentado pela hipercolesterolemia, hiperlipidemia, fumo, intolerância a glicose e hipertensão.

A verificação destes fatores e o tratamento rápido na fase inicial são possíveis pela dosagem de Triglicérides, Colesterol e Colesterol-HDL. O Colesterol-HDL é um fator de proteção (defesa) se seus valores estiverem dentro dos limites desejáveis. Os níveis de Colesterol-HDL são inversamente proporcionais ao risco de doença coronariana isquêmica. As outras frações, LDL e VLDL, são fatores de risco quando estiverem acima dos limites desejáveis, e estão associados com o aumento do risco de doença coronariana isquêmica.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO: Conservar entre 2 a 25°C.

PREC - Precipitante: Ácido fosfotúngstico 0,55 mmol/L; cloreto de magnésio 25 mmol/L.

PAD - Padrão: Colesterol 60 mg/dL para a técnica Macro, ou 70 mg/dL para a técnica Semi-micro.

PREPARO DO REAGENTE DE USO:

A. Precipitante para determinação MACRO:
Utilizar o Precipitante (PREC) sem diluir.

B. Precipitante para determinação SEMI-MICRO:

Diluir o conteúdo do frasco (25 mL) com 6,25 mL de água destilada ou diluir 4 partes do Precipitante (PREC) com 1 parte de água destilada (4+1).

ESTABILIDADE:

O PREC é estável mesmo depois de aberto até a data de validade impressa no rótulo quando armazenado entre 2 e 25°C. Evitar contaminação. Depois da abertura do kit o PAD deverá ser armazenado entre 2 e 8°C.

TRANSPORTE:

Não existem condições especiais para o transporte do produto.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Os reagentes não possuem substâncias contaminantes. Mas cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes.
- 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.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

- SORO, PLASMA (Heparina, EDTA).
 - A amostra é estável por 3 dias entre 2 e 8°C, ou 1 mês a -20°C.
- É necessário um jejum de 12 horas antes da coleta da amostra.

INTERFERENTES:

Hemoglobina acima de 100 mg/dL, bilirrubina acima de 12 mg/dL, ácido ascórbico acima de 4 mg/dL e triglicérides acima de 400 mg/dL interferem com o teste. Portanto, amostras hemolisadas, ictericas, lipêmicas e amostras de pacientes que tomam vitamina C não devem ser usadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Centrífuga;
- Espectrofotômetro UV/VIS calibrado;
- Pipetas calibradas;
- Tubos.

MÉTODO DE ANÁLISE:

A. PRECIPITAÇÃO

Pipetar em tubo de centrifuga:

| TESTE | MACRO | SEMI-MICRO |
|-----------------|--------|------------|
| Amostra | 500 µL | 200 µL |
| PREC-Sem Diluir | 1,0 mL | ---- |
| PREC-Diluído | ---- | 0,5 mL |

Homogeneizar bem. Deixar em repouso à temperatura ambiente por 10 minutos. Centrifugar 2 minutos a 10.000 RPM ou 10 minutos a 4000 RPM.

Após centrifugação, separar o sobrenadante límpido do precipitado dentro do período de até uma hora e determinar a concentração do Colesterol - HDL utilizando o Kit Colesterol Enzimático In Vitro/Human.

Se o sobrenadante não estiver límpido, devido a alta concentração de triglicérides, diluir a amostra 1:1 com solução de cloreto de sódio 0,9% e repetir a precipitação. Multiplicar o resultado por 2.

B. COLORIMETRIA

Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: 500 nm, Hg 546 nm

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 37°C

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

Identificar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

| Sobrenadante | BRANCO (mL) | AMOSTRA (mL) | PADRÃO (mL) |
|---------------------|-------------|--------------|-------------|
| Sobrenadante | - | 0,2 | - |
| PAD | - | - | 0,02 |
| Água destilada | - | - | 0,200 |
| Reagente enzimático | 2,0 | 2,0 | 2,0 |

Homogeneizar. Incubar 10 minutos a 37°C. Determinar a absorbância da amostra e do PAD a 500 nm contra o branco. A reação é estável por 60 minutos.

C. CÁLCULO

Utilizar os fatores a seguir para encontrar os valores de Colesterol-HDL considerando-se determinações MACRO e SEMI-MICRO.

1. Determinação MACRO:

$$\text{HDL mg/dL} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 60$$

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{60}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

2. Determinação SEMI-MICRO:

$$\text{HDL mg/dL} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 70$$

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{70}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

60 (macro) / 70 (semi-micro) = Fator de multiplicação obtido considerando a diluição da amostra com o PREC, o volume de reação no tubo teste, o volume de reação no tubo padrão, o volume do PAD e o volume do sobrenadante, concentração do padrão.

Exemplo:

1- Determinação Macro:

$$\text{Abs. Teste} = 0,244 \text{ HDL} \quad \text{mg/dL} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 60$$

$$\text{Abs. Padrão} = 0,305$$

$$\text{mg/dL} = \frac{0,244}{0,305} \times 60$$

$$\text{HDL (mg/dL)} = 48 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{60}{\text{Abs. do Padrão}}$$

$$\text{FC} = \frac{60}{0,305}$$

$$\text{FC} = 197$$

2- Determinação Semi-micro:

$$\text{Abs. Teste} = 0,210 \quad \text{HDL mg/dL} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 70$$

$$\text{Abs. Padrão} = 0,305$$

$$\text{HDL mg/dL} = \frac{0,210}{0,305} \times 70$$

$$\text{HDL mg/dL} = 48 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{70}{\text{Abs. Padrão}} = \frac{70}{0,305}$$

$$\text{FC} = 230$$

D. CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DE LDL E VLDL.

Obtém-se, através da equação de FRIEDWALD, a concentração de LDL e VLDL com exatidão em amostras cuja concentração de Triglicérides não seja maior que 400 mg/dL e de pacientes não portadores de lipoproteinemia do tipo III.

VLDL = triglicérides/5

LDL = colesterol total - (HDL + VLDL)

Exemplo:

$$\text{VLDL} = \frac{\text{Triglicérides}}{5}$$

$$\text{VLDL} = \frac{135}{5}$$

$$\text{VLDL} = 27 \text{ mg/dL}$$

LDL = Colesterol Total - (HDL + VLDL)

$$\text{LDL} = 134 - (48 + 27)$$

$$\text{LDL} = 59 \text{ mg/dL}$$

INTERPRETAÇÃO CLÍNICA:

| VALORES (mg/dL) | Ótimo | Desejável | Limítrofe | Alto | Muito alto |
|------------------|-------|-----------|-----------|---------|------------|
| Triglicérides | < 150 | - | 150-200 | 200-499 | ≥ 500 |
| VLDL | < 30 | - | 30-40 | > 40 | - |
| LDL | < 100 | 100-129 | 130-159 | 160-189 | ≥ 190 |
| Colesterol Total | < 200 | - | 200-239 | > 240 | - |
| HDL (Masculino) | > 55 | - | 35-55 | < 35 | - |
| HDL (Feminino) | > 65 | - | 45-65 | < 45 | - |

LINEARIDADE:

O teste é linear até a concentração de 200 mg/dL. Para concentrações maiores diluir a amostra com salina fisiológica, efetuar nova determinação e multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

RECUPERAÇÃO EM SOROS CONTROLES:

Soros controle comercialmente disponíveis foram utilizados. Os soros controle foram reconstituídos/preparados de acordo com as instruções do fabricante. 5 determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Colesterol HDL Precipitação. As médias das 5 determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvos.

| Valor alvo, mg/dL | Média do valor recuperado | Recuperação, % |
|-------------------|---------------------------|----------------|
| 62,3 | 63,9 | 103 |
| 53,7 | 53,7 | 95 |

REPETIBILIDADE:

| | N | MÉDIA | DP | CV (%) |
|-----------|----|--------|------|--------|
| Amostra 1 | 10 | 64,22 | 0,29 | 0,4 |
| Amostra 2 | 10 | 125,85 | 1,41 | 1,1 |

REPRODUTIBILIDADE:

| | N | MÉDIA | DP | CV (%) |
|-----------|----|--------|------|--------|
| Amostra 1 | 10 | 63,15 | 1,31 | 2,07 |
| Amostra 2 | 10 | 122,43 | 5,66 | 4,62 |

SENSIBILIDADE:

3,93 mg/dL

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

O teste de Colesterol HDL Precipitação foi comparado com outro método disponível comercialmente. Soros controle e amostras foram usados para comparação. Os resultados foram avaliados por um componente principal de análise e também pelo modelo de regressão não paramétrica de acordo com Bablok & Passing. A regressão linear obtida pode ser descrita como:

$$r = 0,997 \quad Y = -2,9286 + 1,0476X$$

Ambos os métodos mostraram boa concordância e um desvio não significativo foi observado em algumas amostras específicas.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método enzimático-colorimétrico para o colesterol HDL pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controles das linhas Humatrol e Serodos.

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores pode ser fornecida quando solicitada.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

| Cat. Nº | Reagente | Volume | Nº Teste |
|---------|----------|-----------|----------|
| 044 | PREC | 1 x 25 mL | 25 a 60 |
| | PAD | 1 x 1 mL | |

BIBLIOGRAFIA:

- Friedwald, W.T. et al., Clin. Chem., 18,499 (1972).
- Gordon, T. and M., Amer. J. Med., 62,707 (1977).

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.

Produzido 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. 10303460311 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