HDL Direto liquicolor - SNIBE

MÉTODO
Teste homogêneo direto.

FINALIDADE
Teste enzimático homogêneo para a determinação quantitativa de colesterol HDL (HDL). Somente para diagnóstico de uso *in vitro* profissional.

FUNDAMENTO
Método seletivo baseado na aceleração da reação da colesterol oxidase (CHO) com o colesterol livre das lipoproteínas não HDL e a solubilização seletiva das partículas de HDL por ação de um detergente específico. Na primeira etapa, o colesterol livre das partículas não HDL são eliminados por meio de uma reação enzimática catalisada pela enzima colesterol oxidase na presença do acelerador. O peróxido de hidrogênio produzido é consumido por uma reação da peroxidase com DSBmT formando um produto incolor. Na segunda etapa, um detergente solubiliza especificamente o HDL. O HDL solubilizado sob a ação das enzimas colesterol esterase (CHE) e colesterol oxidase (CHO) e acoplamento com 4-aminoantipirina e o cromogênio DSBmT, em reação catalisada pela peroxidase, ocorre o desenvolvimento de coloração que é proporcional à concentração de colesterol HDL na amostra.

Reações principais:

HDL, LDL, VLDL, Quilomicrons —(Acelerador + CHO; DSBmT + Peroxidase)→ LDL, Quilomicrons + HDL e VLDL não reagentes

HDL —(Detergente Seletivo; Surfactantes específicos)→ Colesterol HDL solubilizado

HDL Solubilizado —(CHE + CHO)→ Colestenona + H_2O_2

H_2O_2 + DSBmT + 4-aminoantipirina —(Peroxidase)→ Antipirilquinonimina + 4 H_2O_2

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 8ºC.

R1 Reagente 1: Tampão pH 6; colesterol esterase <1000 U/L; peroxidase, <1300 U/L, N.N-bis(4sulfobutil)mtoluidina-disódio (DSBmT) <1 mM, Acelerador <1mM, Azida sódica <0,06%, ascorbato oxidase <3000 U/L

R2 Reagente 2: Tampão pH 6; colesterol esterase < 1500 U/L, 4-aminoantipirina < 1mM, detergente < 2%, azida sódica < 0,06%.

PREPARO DO REAGENTE DE USO
Os reagentes já se encontram 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 8ºC. Evitar contaminação. Não congelar. Não misturar as tampas. Proteger R1 da luz.

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 7 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.

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 autoclavação (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 normativa 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.
• Para 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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipo de amostra: Soro, plasma com EDTA, heparina lítio, heparina sódio. Amostras com citrato ou oxalato não devem ser usadas pois produzem resultados diminuídos.

Estabilidade das amostras: As amostras devem ser colhidas de pacientes com jejum de 12 – 14 horas. As amostras devem ser centrifugadas, e o soro ou plasma removido em no máximo 3 horas. O soro ou plasma não devem permanecer entre 15-30°C por mais de 14 horas. Se os testes não forem realizados no prazo de 14 horas, eles devem ser armazenados entre 2-8°C por até 1 semana. Se as amostras precisarem ser armazenadas por mais de 1 semana, podem ser congeladas a -20°C por 30 dias e por até 3 meses a -70°C. As amostras devem ser congeladas somente uma vez.

● O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8ºC) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE
A. Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: 600 nm (570 a 610 nm)
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 37ºC
Medida: contra água.

B. Procedimento de teste:

Pipetar na cuvetas	Amostra
Amostra	10 µL
R1	750 µL
Homogeneizar gentilmente e incubar por **exatamente** 5 minutos a 37ºC.	
R2	250 µL
Homogeneizar gentilmente, incubar a 37ºC e ler a absorbância do CAL e das amostras depois de 5 minutos. Acertar o zero com água deionizada.	

CÁLCULOS

$$C_{amostra} = C_{CAL} \times \frac{Abs_{amostra}}{Abs_{Calibrador}} \text{ (mg/dL)}$$

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

Exemplo:
$C_{calibrador}$ = 50 mg/dL

$Abs_{amostra}$ = 0,149

$Abs_{calibrador}$ = 0,125

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

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

CALIBRAÇÃO
Para a calibração recomenda-se o uso do Multicalibrador de Bioquímica – Snibe de acordo com os procedimentos descritos em suas instruções de uso e tabelas com valores. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida. A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
- Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
- Depois da troca de lote de reagente;
- De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

VALORES DE REFERÊNCIA
Os valores de referência são para indivíduos sadios adultos do sexo masculino e feminino, com jejum de 12 horas e seguem a atualização da Diretriz Brasileira de de Dislipidemias e Prevenção de aterosclerose.

Adultos ≥ 20 anos			
Lípides	Com jejum	Sem jejum	Categoria Referencial
Colesterol Total*	< 190 mg/dL	< 190 mg/dL	Desejável
HDL-C	> 40 mg/dL	> 40 mg/dL	Desejável
Triglicérides**	> 150 mg/dL	< 175 mg/dL	Desejável
Categoria de Risco			
LDL-C	< 130 mg/dL	< 130 mg/dL	Baixo
	< 100 mg/dL	< 100 mg/dL	Intermediário
	< 70 mg/dL	< 70 mg/dL	Alto
	< 50 mg/dL	< 50 mg/dL	Muito Alto
Não-HDL-C	< 160 mg/dL	< 160 mg/dL	Baixo
	< 130 mg/dL	< 130 mg/dL	Intermediário
	< 100 mg/dL	< 100 mg/dL	Alto
	< 80 mg/dL	< 80 mg/dL	Muito Alto

Crianças e Adolescentes		
Lípides	Com jejum	Sem jejum
Colesterol Total*	< 170 mg/dL	< 170 mg/dL
HDL-C	> 45 mg/dL	> 45 mg/dL
Triglicérides (0 – 9 anos)**	< 75 mg/dL	< 85 mg/dL
Triglicérides (10 – 19 anos)**	< 90 mg/dL	< 100 mg/dL
LDL-C	< 110 mg/dL	< 110 mg/dL

*Valores de Colesterol Total ≥ 310 mg/dL (adultos) ou ≥ 230 mg/dL (crianças e adolescentes) podem ser indicativos de hipercolesterolemia familiar. ** Para valores de Triglicérides (sem jejum) > 440 mg/dL, o médico deverá solicitar nova avaliação com jejum de 12 horas.

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle humano contendo valores determinados pelo método enzimático colorimétrico homogêneo direto para o colesterol HDL pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

AUTOMAÇÃO
Adaptação especial para analisadores automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
O Calibrador HDL é rastreável a um padrão de HDL comercial (AUTOCAL). Este padrão comercial é rastreável ao material de referência CRMLN (NCEP Japão).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
Um conjunto de 101 amostras com valores normais de triglicérides (≤400 mg/dL) com concentrações na faixa de 32 a 133 mg/dL foram testadas em duplicata contra um kit comercialmente disponível. Os dados foram calculados usando-se uma análise de regressão.

Método	HDL Direto liquicolor	Referência
N	52	52
Média (mg/dL)	58,3	56,3
Faixa (mg/dL)	33,6 – 133,0	32,0 - 133
Análise de regressão	Y=0,9826x + 3,1308	
Coeficiente de Correlação	0,996	

Precisão
Repetibilidade:

AMOSTRA	MÉDIA	DP	CV%
Pool soro alto	32,9	0,26	0,80
Pool soro médio	50,6	0,25	0,49
Pool soro baixo	101,4	0,68	0,67

Reprodutibilidade:

AMOSTRA	MÉDIA	DP	CV%
Pool soro	32,8	0,4	1,3
Controle I	50,0	0,7	1,5
Controle II	100,1	1,1	1,1

Sensibilidade
Sensibilidade analítica menor que 2 mg/dL.

Linearidade
Até 200 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.

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

Interferente	Concentração
Hemoglobina	1000 mg/dL
Bilirrubina Conjugada	60 mg/dL
Bilirrubina não conjugada	60 mg/dL
Ácido ascórbico	100 mg/dL
Gamaglobulina	5000 mg/dL
Triglicérides	2000 mg/dL

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat. Nº	Reagente	Volume
818-2	R1 R2	2 x 60 mL 2 x 20 mL

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).

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS
Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF-MG 4463

ANVISA: 10303460587 Classe de risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO


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