

Colesterol

Kit para determinação do colesterol total por metodologia enzimática-colorimétrica.

REF. 460:

MS 80022230064



MÉTODO

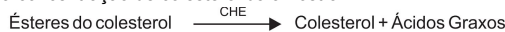
Enzimático-Colorimétrico (Trinder).

FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa do colesterol total no soro. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Os ésteres do colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase (CHE) formando colesterol livre que após oxidação pela colesterol oxidase (CHOD) forma peróxido de hidrogênio. Este, reagindo com o fenol e 4-aminoantipirina, através de copulação oxidativa catalisada pela peroxidase (POD), produz uma quinonimina de cor vermelha. A absorbância do complexo formado, medida em 500 nm, é diretamente proporcional à concentração de colesterol da amostra.



SIGNIFICADO CLÍNICO

O colesterol é o principal esteroide do organismo, estando presente em todas as células como um componente estrutural das membranas e das lipoproteínas (HDL, VLDL e principalmente LDL). É também o precursor na formação dos hormônios esteróides pelas gônadas e córtex adrenal.

Cerca de 70 a 75% do colesterol plasmático encontra-se na forma de éster e 25 a 30% existe como colesterol livre.

Além do colesterol absorvido a cada dia pelo tubo gastrointestinal, que é denominado colesterol exógeno, grande quantidade designada como colesterol endógeno é formada no fígado e outros tecidos.

A aterosclerose caracteriza-se pelo acúmulo de lípidos dentro e ao redor das células na íntima das artérias e está associada com a proliferação celular e fibrosa provocando o estreitamento do lúmen do vaso.

O desenvolvimento da aterosclerose está ativa em todos os indivíduos e permanece sem qualquer manifestação por décadas. Subitamente pode-se manifestar por dor torácica, infarto agudo do miocárdio ou morte súbita.

Diversos estudos epidemiológicos e experimentais comprovam uma correlação positiva entre os níveis do colesterol, mais precisamente do colesterol LDL e o risco de doença arterial coronariana (DAC).

Ao contrário, os níveis de colesterol HDL são inversamente proporcionais ao risco de DAC.

Valores aumentados de colesterol são encontrados na nefrose, no hipotireoidismo, nas doenças colestáticas do fígado e nas hiperlipoproteinemias dos tipos IIa, IIb e III.

Níveis diminuídos são encontrados no hipertireoidismo, doenças consuntivas e desnutrição crônica.

O nível de colesterol sérico, juntamente com a hipertensão e o fumo, constituem fatores de risco de aterosclerose e doença arterial coronariana (DAC).

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia enzimática colorimétrica de ponto final, rápida e direta para dosagem do colesterol total facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, prontos para uso.
- O Reagente de Cor possui agente clarificador de soro que elimina interferências positivas produzidas por valores de triglicérides até 2600 mg/dL.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

1. **Padrão** - Contém colesterol 200 mg/dL e azida sódica 15 mmol/L.

O Padrão é rastreável ao Standard Reference Material SRM 911 do National Institute of Standards and Technology - NIST.

2. **Reagente de Cor** - Contém tampão 35 mmol/L pH 7,0, colato sódico 0,5 mmol/L, fenol 28 mmol/L, colesterol esterase 200 U/L, colesterol oxidase 100 U/L, peroxidase 800 U/L, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L e azida sódica 15 mmol/L.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

1. Presença de partículas e turbidez indicam deterioração dos reagentes.
2. A absorbância do Reagente de Cor lida contra a água em 500 nm deverá ser inferior a 0,300 durante toda a sua utilização ou até a expiração da data de validade do mesmo.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura entre 490 e 510 nm);

- Tubos e pipetas;
- Banho-maria a 37 °C;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso 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.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Não pipetar diretamente do frasco do Reagente de Cor (2) para evitar contaminação.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO.

O analito é estável por 7 dias entre 2-8 °C.

Misturar bem as amostras lipêmicas antes de iniciar a dosagem.

Não utilizar amostras fortemente hemolisadas.

A amostra de sangue deve ser colhida após um jejum de 12 horas para evitar a interferência da lipemia pós-prandial que geralmente está presente em amostras obtidas sem jejum.

Nota: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS

A postura durante a coleta da amostra deve ser padronizada porque pode ter efeitos significativos nos resultados. Se as amostras são obtidas na posição sentada, deve-se padronizar para que o indivíduo esteja sentado durante 15 minutos e não mais do que 30 minutos.

O garroteamento não deve exceder a 1 minuto para não produzir hemoconcentração, que pode aumentar os valores do colesterol em 5% após 2 minutos e 10% a 15% após 5 minutos. Portanto, é muito importante que os laboratórios padronizem o procedimento da coleta da amostra.

Níveis elevados de ascorbato (vitamina C) produzem interferências negativas por competição com o cromógeno na reação da peroxidase.

Se houver suspeita da presença de ácido ascórbico, deixar o soro em repouso durante 90 minutos antes de iniciar a dosagem para não obter resultados falsamente diminuídos.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 5 mg/dL, lipemia (triglicérides até 2600 mg/dL), hemólise (hemoglobina até 180 mg/dL) não produzem interferências significativas.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A- Condições de Reação

Leitura: Comprimento de onda 500 nm

Medida: Contra o Branco

Tipo de reação: Ponto final

B- Técnica de Análise

1. Identificar 3 tubos de ensaio com "Branco", "Teste" e "Padrão" e proceder:

Tubos	Branco	Teste	Padrão
Soro	-----	10 µL	-----
Padrão (1)	-----	-----	10 µL
Reagente de Cor (2)	1000 µL	1000 µL	1000 µL

2. Homogeneizar e incubar em banho-maria a 37 °C por 10 minutos

O nível de água do banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos.

3. Fazer as leituras fotométricas do Padrão (AP) e do Teste (AT), zerando o aparelho com o Branco em 500 nm (490 a 510 nm).

A cor é estável durante 1 hora.

Cálculos

Ver Linearidade.

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, calcular a concentração do teste através do Fator de Calibração (FC).

CP = Concentração do Padrão = 200 mg/dL

AP = Absorbância do Padrão

CT = Concentração do Teste

AT = Absorbância do Teste

FC = CP ÷ AP

CT (mg/dL) = FC x AT

Exemplo

CP = 200 mg/dL
 AP = 0,347
 AT = 0,301
 FC = CP ÷ AP = 200 ÷ 0,347 = 576
 CT (mg/dL) = FC x AT = 576 x 0,301 = 173 mg/dL

Atenção

- Esta técnica de dosagem é adequada para fotômetros cujo volume mínimo de solução para a leitura é igual ou menor do que 1000 µL.
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Conversão de Unidades

Unidades Convencionais (mg/dL) x 0,026 = Unidades SI (mmol/L)

VALORES DESEJÁVEIS OU RECOMENDADOS

Valores de referência do perfil lipídico para adultos >20 anos e para crianças e adolescentes.

1. Adultos

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/ dL)	Categoria Referencial
Colesterol Total*	< 190	< 190	Desejável
HDL- C	> 40	> 40	Desejável

CT* >310 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar (HF).

2. Crianças e Adolescentes

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/ dL)
Colesterol Total*	< 170	< 170

CT* >230 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar (HF).

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos. O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br A calibração com o Padrão aquoso pode causar desvios em alguns analisadores. Nestes casos, recomenda-se calibrar com calibrador protéico - Calibrador - Cat. 410 - Gold Analisa.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos. Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa. É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO¹⁰

Linearidade

A reação é linear até 500 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de colesterol utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,1 e 0,9%.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de colesterol em dias diferentes utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,9 e 1,0%.

Limite de Detecção

O limite de detecção é igual a 0,3 mg/dL, equivalente a três desvios padrão (DP) obtidos a partir de um ensaio com vinte medições (20) da absorbância do branco da reação em espectrofotômetro no comprimento de onda de 500 nm.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 146 amostras de soro humano com valores desconhecidos. Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa

em um intervalo de confiança de 95% com uma equação de regressão linear onde $y = 1,013x - 2$.

OBSERVAÇÕES

1. 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.
2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alain CA, Poon LS, Cahn CSG, Richmond W, Fu PC. Clin Chem 1974;20:470.
2. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamento de Química Clínica, 4a Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
3. Erichsen ES, Viana LG, Delbone de Faria RM, Santos SME. Medicina Laboratorial para o Clínico, 1ª Ed COOPMED - Editora Médica 2009;P493.
4. Fredrickson DS, Levy RJ, Lee RS. New Engl J Med 1967; 276:24, 94, 148, 215, 276.
5. Good NE, Winger GD, Winter W, Connoly TN, Izawa S, Singh RMM. Biochemistry 1966;5:467.
6. Imetro - Boas Práticas de Laboratório Clínico e Listas de Verificação para Avaliação, Qualimark Editora, Rio de Janeiro, 1997.
7. Leite PF, et al. Risco Cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Loyola, 1994.P56.
8. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH. Handbook of lipoprotein testing. AACCC Press, Washington, 1997: 75-97.
9. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. Clin. Chem. 1981; 27: 493-501.
10. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Embalagem	Reagentes	Volume
460	Normal	Padrão	1 x 5 mL
		Reagente de Cor	2 x 100 mL
460E	Especial	Padrão	1 x 5 mL
		Reagente de Cor	1 x 500 mL

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor
 A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.
 Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto
 Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
 AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230064
 Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421
 Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888
 Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020
 Home page: www.goldanalisa.com.br
 E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br
Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA			
	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico in vitro		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por