

HDL Direto

Kit para determinação do colesterol HDL por metodologia enzimática-colorimétrica direta.

REF. 400

MS 80022230071



Analisa

MÉTODO

Surfactante seletivo.

FINALIDADE

Sistema para determinação quantitativa e direta da lipoproteína de alta densidade (HDL) em amostras de soro e plasma (heparina e EDTA). Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Na primeira etapa da reação, o poliânion e o composto catiônico interagem eletrostaticamente com a lipoproteína de baixa densidade (LDL), a lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e os quilomícrons (CM); o que impedirá a reação das partículas não HDL com as enzimas colesterol oxidase (CHOD) e colesterol esterase (CHER).

Na segunda etapa, as enzimas reagem especificamente com a lipoproteína de alta densidade (HDL) presente na amostra, produzindo peróxido de hidrogênio (H₂O₂) que é detectado pela reação de Trinder.

A intensidade da cor formada é diretamente proporcional à concentração de colesterol HDL na amostra.

HDL + LDL + VLDL + CM CHE + CHO Colestenona + H₂O₂
Condições específicas

2 H₂O₂ Catalase 2 H₂O + O₂

HDL CHE + CHO Colestenona + H₂O₂
Surfactantes específicos

H₂O₂ + Cromógenos Peroxidase Pigmentos de Quinona

SIGNIFICADO CLÍNICO

As lipoproteínas de alta densidade (HDL = High Density Lipoproteins) exercem uma ação importante na concentração do colesterol nos tecidos. Atuam ainda no retorno do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado. A taxa de Colesterol HDL mantém uma relação inversa com o fator de risco de DAC (Doença Arterial Coronariana), isto é, quanto maior o seu teor na circulação menor o risco de DAC. Deste modo, o colesterol HDL exerce um efeito protetor contra a aterosclerose. A prevalência da enfermidade coronariana é muito maior em indivíduos com níveis reduzidos de HDL do que em indivíduos com teores elevados. Ao contrário, a taxa de Colesterol LDL está diretamente relacionada com o fator de risco de DAC, isto é, quanto maior o seu teor na circulação maior é a probabilidade do indivíduo desenvolver essa doença. O colesterol, a hipertensão arterial, o fumo e a intolerância à glicose são quatro grandes fatores para o desenvolvimento da DAC. Exercícios físicos podem aumentar o Colesterol HDL, assim como algumas drogas: lovastatina, ácido nicotínico, ciclofenil, cimetidina, etanol, estrogênios, terbutalina. Valores baixos de Colesterol HDL são encontrados em indivíduos obesos, de vida sedentária, fumantes, diabéticos, naolestase, hepatopatia, arteriosclerose, coronariopatia, etc.

QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO

- Metodologia enzimática colorimétrica direta para a determinação segura da concentração do Colesterol HDL.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

REAGENTES

Conservar entre 2 e 8 °C.

1. **Reagente 1** - Pronto para uso. 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.
2. **Reagente 2** - Pronto para uso. Contém Peroxidase 3500 U/L; 4-Aminofenazona 4 mmol/L; Tampão de Good, pH 7,0 (25°C) 100 mmol/L; Azida sódica 0,05%.
3. **Calibrador** - Reagente liofilizado. Contém soro matriz humana, Colesterol-HDL (concentração variável de lote a lote). Potencialmente infectante.

ESTABILIDADE

Os reagentes não abertos quando armazenados entre 2 e 8°C são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Após abertos desde que não sejam expostos a contaminações química ou microbiana, os reagentes são estáveis até a data de expiração indicada (devem ser armazenados bem vedados em temperatura entre 2 e 8°C). Reagente 1 e Reagente 2, quando mantidos em bandeja refrigerada no equipamento são estáveis por 5 semanas. Este período pode ser modificado em função das características e condições do equipamento. O controle de qualidade deve ser utilizado para monitorar o desempenho desses reagentes.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (560-600 nm);
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostator na temperatura constante de 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.
- O Calibrador (3) por ser derivado do sangue humano foi testado para anticorpos anti-HCV e anti-HIV e antígeno HBsAg e apresentou resultado negativo. No entanto, deve ser tratado com precaução, como potencialmente infectante. Manusear e descartar segundo as normas de biossegurança.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Utilizar Calibrador e Reagentes sempre do mesmo lote.

AMOSTRA

SORO ou PLASMA (heparina lítio ou EDTA).

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.

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

Recomenda-se realizar o teste logo após a obtenção da amostra.

Evitar congelamentos e descongelamentos repetidos da amostra.

Não utilizar amostras fortemente hemolisadas ou com sinais de contaminação bacteriana.

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

Os valores de Colesterol HDL de uma mesma pessoa e em ocasiões diferentes podem variar consideravelmente devido a variações biológicas e também a variações do método analítico.

A concentração de Colesterol HDL também podem variar em função de dietas, prática de exercícios físicos, variação do peso corporal, ação de hormônios, uso de álcool e fumo.

INTERFERÊNCIAS

O ácido ascórbico até 0,20%, hemoglobina até 500 mg/dL, a bilirrubina até 30 mg/dL, triglicérides até 1640 mg/dL e o colesterol VLDL até 540 mg/dL não interferem na metodologia.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

Comprimento de onda principal: 578 nm

Tipo de Reação: Ponto final

Preparo do Calibrador

Reconstituir o conteúdo do frasco de Calibrador (3) com exatamente 1,0 mL de água recém destilada ou deionizada.

Fechar o frasco e deixar em repouso por 10 minutos.

Homogeneizar por inversão suave, evitando a formação de espuma.

Estável por 7 dias entre 2 a 8 °C e por 30 dias a 20 °C negativos.

Sugerimos alíquotar em volumes pequenos e frascos adequados.

Após congelar, homogeneizar bem antes de usar.

B. Técnica de Análise (Procedimento Manual)

	Branco	Teste	Calibrador
Reagente 1	750 µL	750 µL	750 µL
Amostra ou Calibrador	----	10 µL	10 µL

1. Homogeneizar e incubar a 37 °C por 5 minutos.

2. O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.

3. Adicionar aos tubos de ensaio:

	Branco	Teste	Calibrador
Reagente 2	250 µL	250 µL	250 µL

4. Homogeneizar e incubar a 37 °C por 5 minutos.

5. Fazer as leituras, zerando com o tubo branco.

Cálculos

CC = Concentração do Calibrador (Ver valor de HDL no rótulo do frasco)

CT = Concentração do Teste

AC = Absorbância do Calibrador

AT = Absorbância do Teste

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

FC = CC ÷ AC

CT = FC x AT

VALORES DESEJÁVEIS DO PERFIL LIPÍDICO

Tabela I. Valores de referência do perfil lipídico e valor de alvo terapêutico segundo o risco cardiovascular para adultos >20 anos.

Tabela II. Valores de referência do perfil lipídico para crianças e adolescentes

Tabela I - Adultos

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)	Categoria Referencial
Colesterol Total*	< 190	< 190	Desejável
HDL- C	> 40	> 40	Desejável
			Categoria de Risco
LDL-C	< 130	< 130	Baixo
	< 100	< 100	Intermediário
	< 70	< 70	Alto
	< 50	< 50	Muito Alto
Não HDL-C	< 160	< 160	Baixo
	< 130	< 130	Intermediário
	< 100	< 100	Alto
	< 80	< 80	Muito Alto

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

Tabela II - Crianças e adolescentes

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)
Colesterol Total*	< 170	< 170
HDL- C	> 45	> 45
LDL-C	< 110	< 110
Não HDL-C	< 120	< 120

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

Conversão de Unidades (mg/dL para SI)

mmol/L de colesterol HDL = mg/dL de colesterol HDL x 0,026

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

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve implementar um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC).

Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle com valores estabelecidos pelos fabricantes.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁴

Linearidade

A reação é linear entre 1,00 e 150 mg/dL. Para concentrações superiores a 150 mg/dL, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova determinação e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada utilizando 3 amostras de soro com concentrações de 30,9, 65,1 e 73,6 mg/dL.

As médias obtidas para os coeficientes de variação foram de 0,52, 0,59 e 0,41% respectivamente.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada utilizando 3 amostras de soro com concentrações de 30,9, 65,1 e 73,6 mg/dL.

As médias obtidas para os coeficientes de variação foram de 0,79, 0,93 e 0,74% respectivamente.

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. Bachorik PS, Ross JW. Clin Chem 1995;41:1414-20.

2. Executive Summary of the Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486-97.

3. Leite PF, Martinez TLR, Halpern A, Cendoroglo MS, Novazzi JP, Fonseca FAH, Dias JCA. Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Loyola, 1994. p.56.

4. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Nº de testes	Reagentes	Volume
400	80	Reagente 1 Reagente 2 Calibrador	1 x 60 mL 1 x 20 mL 1 x 1 mL
400E	240	Reagente 1 Reagente 2 Calibrador	1 x 180 mL 1 x 60 mL 1 x 1 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 80022230071

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 <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por
	Risco biológico		Liofilizado
	Calibrador		