

# Colesterol HDL

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

REF. 413

MS 80022230068



**Analisa**

## MÉTODO

Enzimático-Colorimétrico (Precipitação Seletiva).

## FINALIDADE

Reagentes para determinação do colesterol HDL no soro ou plasma após precipitação seletiva das lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL). Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

## FUNDAMENTO

Os quilomicrons, as lipoproteínas de muita baixa densidade (VLDL) e as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são quantitativamente precipitadas com fosfogungstato e íons magnésio.

Após centrifugação, o sobrenadante contém as lipoproteínas de elevada densidade (HDL), cujo colesterol é quantificado fotometricamente mediante as reações acopladas descritas abaixo.

A absorvância do complexo formado (vermelho), medida em 500 nm, é diretamente proporcional à concentração de colesterol HDL da amostra.



## SIGNIFICADO CLÍNICO

Os 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, arterioclerose, coronariopatia, etc.

## QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- A separação do Colesterol HDL das lipoproteínas VLDL e LDL é feita por precipitação seletiva e quantitativa pelo fosfogungstato e íons de magnésio, obtendo-se resultados comparáveis aos do método de referência.
- O kit emprega reagentes líquidos, prontos para uso facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- 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 0,52 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L.

Armazenar bem vedado para evitar evaporação.

A concentração equivalente (40 mg/dL) do Padrão está indicada no rótulo do frasco.

2. **Precipitante** - Contém ácido fosfogungstático 1,5 mmol/L e cloreto de magnésio 54 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.

## REAGENTE NÃO FORNECIDO

Reagente de Cor do kit de Colesterol - REF. 460 da Gold Analisa.

Deverá ser adquirido separadamente.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura entre 490 a 540 nm);
- Tubos e pipetas;
- Centrífuga;
- 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.

- O Padrão (1) contém azida com conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosas. Não aspirar ou ingerir.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

## AMOSTRA

SORO ou PLASMA (heparina, EDTA).

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

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

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

As concentrações de colesterol HDL podem ainda variar devido a: dietas, prática de exercícios, variação do peso corporal, ação de hormônios, uso de álcool, fumo.

## INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 5 mg/dL, lipemia (triglicérides até 750 mg/dL), hemólise (hemoglobina até 180 mg/dL) não produzem interferências significativas.

Valores de bilirrubina acima de 5 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

Valores de triglicérides acima de 750 mg/dL produzem resultados falsamente elevados.

## PROCEDIMENTO DO TESTE

### A. Condições de Reação

- **Leitura:** Comprimento de onda 500 nm
- **Medida:** Contra o Branco
- **Tipo de reação:** Ponto final

### Notas

1. A relação amostra/precipitante deve ser mantida em 1/1.
2. O sobrenadante obtido deve ser completamente límpido e claro.
3. Após a centrifugação, remover o sobrenadante límpido dentro de 15 minutos para evitar resultados falsamente elevados.
4. Algumas amostras, principalmente as lipêmicas, podem apresentar o sobrenadante límpido com uma camada na sua superfície que não deve ser pipetada para evitar resultados falsamente elevados.
5. Amostras lipêmicas e algumas não lipêmicas podem resultar em sobrenadantes turvos. Nestes casos, diluir o soro a 1/2 com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e repetir a precipitação. Realizar a dosagem e multiplicar o resultado final por 2. No caso de persistir a turbidez ou de não obter uma boa sedimentação do precipitado, a amostra não poderá ser utilizada para dosagem do Colesterol HDL por esta metodologia.
6. Para a determinação do colesterol HDL no sobrenadante, utilizar o Reagente de Cor do kit de Colesterol - REF. 460.

### B. Técnica de Análise

#### Precipitação das VLDL e LDL

1. Em um tubo de centrífuga pipetar:

Amostra	250 µL
Precipitante	250 µL

2. Agitar fortemente por 30 segundos.
3. Centrifugar a 3500 rpm durante 15 minutos para obter um sobrenadante límpido.
4. Pipetar o sobrenadante límpido, imediatamente após a centrifugação, tomando o cuidado para não ressuspender o precipitado para evitar resultados falsamente elevados.

Ver Notas acima.

#### Colorimetria

1. Identificar 3 tubos de ensaio e pipetar:

Tubos	Branco	Teste	Padrão
Sobrenadante		100 µL	
Padrão (1)			100 µL
Reagente de Cor (REF.460)	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) em 500 nm, zerando o aparelho com o Branco.

A cor é estável durante 60 minutos.

**Cálculos**

CP = 40 mg/dL = Concentração Equivalente indicada no rótulo do frasco.  
 CT = Concentração do Teste  
 AP = Absorbância do Padrão  
 AT = Absorbância do Teste  
 FC = CP + AP  
 CT (mg/dL) = FC x AT

**Exemplo**

CP = 40 mg/dL      Se AP = 0,320      Se AT = 0,394  
 FC = CP + AP = 40 + 0,320 = 125  
 CT = FC x AT = 125 x 0,394 = 49 mg/dL

**CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DO COLESTEROL VLDL E LDL**

A concentração do Colesterol VLDL e LDL pode ser calculada através da equação de Friedewald, que é muito exata para amostras cujos valores de triglicérides não ultrapassem 400 mg/dL e não pertençam a pacientes portadores de lipoproteinemia do Tipo III.

**Equação de Friedewald**

Colesterol LDL = Colesterol Total - (HDL + VLDL)  
 Colesterol VLDL = Triglicérides ÷ 5

**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 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
<b>Colesterol Total*</b>	< 190	< 190	Desejável
<b>HDL- C</b>	> 40	> 40	Desejável
			<b>Categoria de Risco</b>
<b>LDL-C</b>	< 130	< 130	Baixo
	< 100	< 100	Intermediário
	< 70	< 70	Alto
	< 50	< 50	Muito Alto
<b>Não HDL-C</b>	< 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)
<b>Colesterol Total*</b>	< 170	< 170
<b>HDL- C</b>	> 45	> 45
<b>LDL-C</b>	< 110	< 110
<b>Não HDL-C</b>	< 120	< 120

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](http://www.goldanalisa.com.br)

**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 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 DESEMPENHO<sup>7</sup>**

**Linearidade** - A reação é linear até 200 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 HDL utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,5 e 0,8%.

**Reprodutibilidade** - A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de colesterol HDL em dias diferentes utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes. As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,0 e 1,7%.

**Comparação de Métodos** - O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 80 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 um coeficiente de correlação r igual a 0,993 e uma equação de regressão linear onde y = 0,932x + 1,337.

**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, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Burstein M, Scholnick HR, Morfin R. J Lipid Res 1970; 11: 583.
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. Grove TH. Clin Chem 1979; 25:560.
5. Leite PF, et al. Risco Cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Loyola, 1994.P56.
6. Warnick RG, Naguyent T, Albers AA. Clin Chem 1985; 2:217-222.
7. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

**APRESENTAÇÃO**

REF.	Nº de Testes	Reagentes	Volume
413	200	Padrão	1 x 5 mL
		Precipitante	1 x 50 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 8002230068  
 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](http://www.goldanalisa.com.br)  
 E-mail: [goldanalisa@goldanalisa.com.br](mailto: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