

LDL Direto

Kit para determinação do Colesterol LDL por metodologia enzimática-colorimétrica direta.

REF. 401: MS 80022230072



MÉTODO

Enzimático-colorimétrico direto.

FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa direta da concentração de Colesterol LDL no soro.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Por ação de um detergente específico, as lipoproteínas de alta densidade (HDL), as de muito baixa densidade (VLDL) e os quilomicros presentes na amostra analisada são solubilizadas. Os ésteres de colesterol são hidrolisados por ação da enzima colesterol esterase e colesterol oxidase mediante uma reação não formadora de cor. O segundo detergente presente no tampão 2 solubiliza o colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) da amostra que em seguida, é determinado espectrofotometricamente através das reações descritas abaixo.



DSBmT = N,N-bis(4-sulfobutil)-m-toluidina

SIGNIFICADO CLÍNICO

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL = Low Density Lipoproteins) são as principais proteínas de transporte do colesterol. É a partícula mais aterogênica do sangue, pois contém cerca de dois terços de todo colesterol plasmático. São formadas na circulação a partir das VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) e, provavelmente, pela degradação dos quilomicros.

A determinação da fração do colesterol ligado à LDL é útil na avaliação do risco de doença coronariana.

O teor de colesterol nas lipoproteínas (LDL e HDL) é considerado como fator de risco para doença arterial coronariana (DAC).

A taxa de colesterol LDL é portanto, um fator de risco direto para DAC, isto é, quanto maior o seu teor na circulação maior é a probabilidade do indivíduo desenvolver essa doença. Deste modo, valores elevados de colesterol LDL estão associados com risco aumentado de DAC.

Diferentemente do LDL, o colesterol HDL está relacionado inversamente com o fator de risco, 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.

O colesterol juntamente com o fumo, hipertensão e intolerância à glicose são quatro grandes fatores para o desenvolvimento da DAC.

Valores aumentados de LDL são encontrados em diabetes melito, hipotireoidismo, hepatopatias, doença de Cushing, hiperlipoproteinemia do tipo II, síndrome nefrótica, gravidez, mieloma múltiplo, uso de drogas como esteróides anabólicos, anticoncepcionais orais, catecolaminas, corticosteróides glicogênicos, anti-hipertensivos betabloqueadores, carbamazepina.

QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO

- Metodologia enzimática colorimétrica direta para a determinação segura da concentração do Colesterol LDL.
- Emprega reagentes rigorosamente padronizados e estabilizados visando a manutenção de rígidas e ótimas condições para a ação enzimática.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

REAGENTES

Conservar entre 2 a 8 °C.

1. **Tampão 1** - Contém tampão MES pH 6,3 > 30 mmol/L; colesterol esterase < 1500 U/L; colesterol oxidase < 1500 U/L; 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L; ascorbato oxidase < 3,0 U/L; peroxidase > 1000 U/L e detergente.
2. **Tampão 2** - Contém tampão MES pH 6,3 > 30 mmol/L; N,N-bis(4-sulfobutil)-m-toluidina (DSBmT) 1 mmol/L e detergente.
3. **Calibrador** - Contém soro humano liofilizado com a concentração de colesterol LDL determinada. A concentração do Calibrador está impressa no rótulo do frasco. MES = Ácido (2-[N-Morfolino] etanosulfônico)

PREPARO DE REAGENTES

1. Os Tampões 1 e 2 estão prontos para uso.

2. Preparo do Calibrador

Reconstituir o conteúdo do frasco de Calibrador (3) com exatamente 1 mL de água recém destilada ou deionizada, fechar o frasco e homogeneizar cuidadosamente para dissolver todo o liofilizado. Evitar formação de espumas. Deixar em repouso por 30 minutos antes do uso. Estável por 7 dias entre 2 a 8 °C.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados em temperatura entre 2-8 °C, 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. O Calibrador após dissolvido é estável 7 dias entre 2 a 8 °C. Se necessário, o calibrador preparado recentemente pode ser dividido em alíquotas e mantido em refrigerador a -18°C por no máximo 60 dias. Congelar e descongelar somente uma vez, homogeneizar cuidadosamente após descongelamento.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura em 546 / 700 nm);
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostaticador 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 em Laboratório Clínico 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.
- Todo o material contaminado deve ser autoclavado por 1 hora a 120 °C ou deixado em solução de hipoclorito de sódio a 10% por 1 hora.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Recomendamos o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como avental, óculos de segurança, luvas descartáveis e outros que se fizerem necessários para a realização do teste.
- Não deve ser utilizada a boca para pipetagem de reagentes, amostra ou qualquer outra substância.

AMOSTRA

SORO ou PLASMA (heparina 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 5 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 hemolisadas.

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

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

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

- Comprimento de onda principal: 546 ± 20 nm
- Comprimento de onda secundário: 700 ± 20 nm
- Cubeta: 1 cm
- Temperatura: 37 °C
- Medida: contra água deionizada.

B. Técnica de Análise (Procedimento Manual)

1. Aquecer os reagentes e as cubetas em 37 °C. A temperatura deve ser mantida constante (± 0,5 °C) durante a realização do teste.

Tampão 1	750 µL
Amostra ou Calibrador	7 µL

2. Misturar e inserir na porta cubetas termostaticado a 37 °C. Acionar o cronômetro.

3. Fazer a leitura fotométrica (A₁) após 5 minutos em 546 nm contra água deionizada.

4. Adicionar à cubeta:

Tampão 2	250 µL
----------	--------

5. Misturar.

6. Fazer nova leitura fotométrica (A₂) após 5 minutos em 546 nm contra água deionizada.

C. Cálculos

Cc = Concentração do Calibrador

(Ver concentração do Calibrador indicada no rótulo do frasco)

Ct = Concentração do Teste

Absorbância do Calibrador = Ac
Absorbância do Teste = At

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

$$Ct = Fc \times (A_2 - A_1)T \quad Fc = \frac{Cc}{(A_2 - A_1)C}$$

Exemplo

Cc = 112 mg/dL
A₁C = 0,051
A₁T = 0,061
A₂C = 0,176
A₂T = 0,194

(A₂ - A₁)C = 0,176 - 0,051 = 0,125
(A₂ - A₁)T = 0,194 - 0,061 = 0,133

$$Fc = \frac{Cc}{(A_2 - A_1)C} \times \frac{112}{0,125} = 896$$

Ct = Fc x (A₂ - A₁)T = 896 x 0,133 = 119 mg/dL

VALORES DESEJÁVEIS OU RECOMENDADOS

Substituem os valores de referência e são determinados a partir de dados epidemiológicos, calculados estatisticamente, que relacionam os níveis do colesterol com a prevalência de doença arterial coronariana (DAC).

Colesterol	Valor Desejável (mg/dL)	Risco Moderado (mg/dL)	Alto Risco (mg/dL)
Total	< 200	200 a 239	240
LDL	< 130	130 a 159	160
HDL (m)	> 55	35 a 55	< 35
HDL (f)	> 65	45 a 65	< 45

m = sexo masculino f= sexo feminino

Conversão de Unidades (U RF/mL para SI)

mmol/L de Colesterol LDL = mg/dL de Colesterol LDL 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 ter implementado um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com os princípios das 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 DESEMPENHO⁶

Linearidade

A reação é linear até o valor de 990 mg/dL (25,7 mmol/L). Para valores maiores, diluir a amostra 1 + 1 com NaCl 150 mmol/L (0,85 g%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido por 2.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações, utilizando 2 amostras de soro com valores de 146 mg/dL e 210 mg/dL. As médias obtidas para os coeficientes de variação foram de 0,7 e 0,6%, respectivamente.

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 40 determinações, utilizando 2 amostras de soro com valores de 143 mg/dL e 207 mg/dL. As médias obtidas para os coeficientes de variação foram de 2,0 e 1,7%, respectivamente.

Limite de Detecção

L_D = 0,3 mg/dL (0,008 mmol/L).
O intervalo de medida vai de 0,3 a 990 mg/dL.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 96 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 = 0,934x + 8,96.

Interferências

A hemólise (hemoglobina até 6000 mg/dL), a bilirrubina até 20 mg/dL e a lipemia (triglicérides até 1290 mg/dL) não interferem. Alguns medicamentos e substâncias podem interferir⁵.

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. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Fundamentos de Química Clínica, 4ª Ed - Guanabara Koogan SA; 1998.
2. Henry,R.J.: Clinical Chemistry - Principles and Technics, 2ª Ed. Harper and Row, 1974.
3. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATPIII). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
4. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-Cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. Clin Chem 48: 236-254,2002.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

APRESENTAÇÃO

REF.	Nº de Testes	Reagentes	Volume
401	80	Tampão 1	1 x 60 mL
		Tampão 2	1 x 20 mL
		Calibrador	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 80022230072
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
	Liofilizado		Risco biológico