

Bioclin

COLESTEROL HDL ENZIMÁTICO

K015

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação do Colesterol HDL. Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimático -Trinder.

As lipoproteínas VLDL (Lipoproteína de muito baixa densidade) e LDL (Lipoproteína de baixa densidade) e os quilomícrons são precipitados com a mistura de Ácido fosfotúngstico e Cloreto de magnésio. Após centrifugação, o Colesterol ligado as Lipoproteínas de alta densidade (HDL) é determinado no sobrenadante por método colorimétrico enzimático.

REAGENTES

Número 1 - Padrão - conservar entre 2 e 8 °C. Contém Colesterol 40mg/dL e n-butanol p.a .

Número 2 - Reagente Precipitante - conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido fosfotúngstico 1,5 mmol/L, Cloreto de magnésio 100 mmol/L.

APRESENTAÇÃO

| Reagentes | Volume |
|---------------|--------|
| Reagente Nº 1 | 2 mL |
| Reagente Nº 2 | 25 mL |

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37 °C, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, kit de Colesterol Líquido Estável da **Bioclin**. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte, em temperaturas entre 15 e 30 °C, não deverá exceder 72 (setenta e duas) horas. **Não congelar**. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio;

6 - O uso do Reagente de Trabalho do Kit Colesterol Líquido Estável ou do Kit Colesterol Monoreagente da **Bioclin** é de fundamental importância para uma boa performance do sistema;

7 - Determinar o fator periodicamente e a cada lote do produto;

8 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

9 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, colhido após jejum de 12 a 14 horas. O Colesterol HDL é estável no soro por 7 dias entre 15 e 30°C e 14 dias entre 2 e 8 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

Precipitação das VLDL, LDL e quilomícrons.

Em tubo de centrifuga, pipetar:

Soro.....250 µL
Reagente Precipitante Nº 2.....250 µL

Agitar no Vortex ou manualmente durante 1 minuto. Centrifugar a 3500 rpm durante 15 minutos. Esta etapa é de fundamental importância para obtenção de resultado correto. O sobrenadante límpido contém Colesterol HDL e deve ser pipetado imediatamente após a centrifugação, para evitar resultado falsamente elevado.

Determinação do Colesterol HDL

Utilizar o Reagente de Trabalho do Kit de Colesterol Líquido Estável ou do Kit Colesterol Monoreagente da Bioclin.

Marcar 3 tubos de ensaio : B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir :

| | Branco | Padrão | Amostra |
|----------------------|--------|--------|---------|
| Sobrenadante | --- | --- | 50 µL |
| Reagente Nº 1 | --- | 50 µL | --- |
| Reagente de Trabalho | 1,0 mL | 1,0 mL | 1,0 mL |

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por

5 minutos. Ler a absorvância da Amostra e do Padrão em 500 nm (490-540), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

Como na realização da técnica o soro é diluído 1:2 com o Reagente Precipitante, necessita-se corrigir essa diluição para obtenção de resultados corretos. Para isso, na realização dos cálculos, o valor do padrão é corrigido para o dobro de sua concentração real, ou seja, 80 mg/dL.

$$\text{HDL (mg/dL)} = \frac{\text{Absorvância da Amostra}}{\text{Absorvância do Padrão}} \times 80$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o método do Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{80}{\text{Absorvância do padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorvância do teste} \times \text{Fator de Calibração}$$

A concentração do Colesterol VLDL e LDL pode ser calculada segundo a equação de Friedewald. Este cálculo poderá ser utilizado para amostras cuja concentração de Triglicérides não ultrapasse 400 mg/dL.

$$\text{Colesterol VLDL} = \text{Triglicérides} / 5$$

$$\text{Colesterol LDL} = \text{Colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

Para amostra lipêmica ou com sobrenadante turvo, diluir a amostra 1:2 com Cloreto de sódio 0,85% e repetir a precipitação. Multiplicar o resultado obtido por 2. Se o sobrenadante permanecer turvo, a amostra não poderá ser utilizada.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Manter sempre a relação de 1:1 entre a amostra e o Precipitante.

Algumas substâncias, como o Ácido ascórbico, Hemoglobina acima de 150 mg/dL, Bilirrubina acima de 20 mg/dL e Triglicérides acima de 600 mg/dL, interferem na reação.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

RASTREABILIDADE

O padrão do kit é rastreável ao material de referência SRM 1951 do NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência, em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Colesterol HDL em populações sadias do sexo masculino e feminino.

| | Desejável | Médio risco | Alto risco |
|-------------------------|-----------|-------------|------------|
| Colesterol LDL | < 130 | 130-159 | >160 |
| Colesterol HDL mulheres | > 65 | 45-65 | < 45 |
| Colesterol HDL homens | > 55 | 35-55 | <35 |

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit Colesterol HDL Enzimático Bioclin foi comparado com outro método para dosagem de Colesterol HDL, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $y = 1,029x - 2,114$, com coeficiente de correlação linear igual a 0,999. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas com três amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

| | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentração (mg/dL) | 35,15 | 50,70 | 70,75 |
| Desvio Padrão (mg/dL) | 0,67 | 0,73 | 0,72 |
| Coefficiente de Variação (%) | 1,91 | 1,45 | 1,01 |

REPRODUTIBILIDADE

Foram realizadas 20 dosagens, durante três dias consecutivos, com três amostras de concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

| | Amostra 1 | Amostra 2 | Amostra 3 |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Concentração (mg/dL) | 34,90 | 50,72 | 70,77 |
| Desvio Padrão (mg/dL) | 0,22 | 0,03 | 0,03 |
| Coefficiente de Variação (%) | 0,62 | 0,06 | 0,04 |

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações

de uma amostra isenta da presença de Colesterol HDL. A média encontrada foi 1,3307 mg/dL, com desvio padrão de 0,0005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 1,3321 mg/dL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A determinação das lipoproteínas de alta densidade (HDL) e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) desempenham papel importante na prevenção e terapia de cardiopatias coronarianas.

As HDL são capazes de captar o Colesterol dos tecidos periféricos e reconduzi-lo ao fígado a fim de degradá-lo e excretá-lo. Este mecanismo, denominado transporte reverso do Colesterol, constitui a teoria da anti-aterogenicidade do HDL, onde baixas concentrações de HDL estão diretamente relacionadas com a incidência de doenças cardiovasculares.

NÚMERO DE TESTES

100 Testes/250 µL de amostra/0,25 mL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALLAIN, C. C., and al. Clin. Chem., 1974, 20-470.
- 2 - TONKS, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, 1983.
- 3 - TRINDER, P., Ann. Clin. Biochem, 1969, 6-24.
- 4 - CARL, A. B. And EDWARD, R. A.; Tietz Textbook of Clinical Chem. 2 nd. ed.; 1994, 1002-1081.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 031 5454.
e-mail sac@bioclin.com.br
Número de registro do kit de Colesterol HDL Enzimático na ANVISA: 10269360082.

Revisão: Dezembro/11

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÂMÁVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO