

Bioclin

HDL DIRETO

K071

INSTRUÇÕES DE USO



FINALIDADE

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

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimático - Colorimétrico

O Kit HDL direto permite uma determinação direta sem a necessidade de precipitação prévia nem tratamento da amostra. São utilizados reagentes que realizam a dosagem seletiva do colesterol ligado ao HDL. As superfícies das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), muito baixa densidade (VLDL) e dos quilomícrons são estabilizadas pela adsorção do poliânion e não sofrem a ação das enzimas modificadas presentes no reagente. O HDL, no entanto, se solubiliza pela ação de um detergente, permitindo a ação enzimática sobre o colesterol ligado a ele. Desta forma, a intensidade da coloração formada é proporcional à concentração de colesterol HDL na amostra.

REAGENTES

Número 1 - Poliânion - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Poliânion 0,2% e 4-aminofenazona 2,0 mmol/L.

Número 2 - Reagente Enzimático - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão 100 mmol/L pH 7,0, DSBT 24 mmol/L, Colesterol Esterase < 300 U/L, Colesterol Oxidase < 300 U/L, Peroxidase < 1.000 U/L, Detergente.

Número 3 - Calibrador - conservar entre 2 e 8°C. Contém: Soro Liofilizado com valor definido de HDL.

Atenção: A concentração varia de acordo com o lote - vide rótulo do frasco.

APRESENTAÇÃO

O kit possui uma única forma de apresentação, composta por:

Reagente Volume

Reagente Nº 1.....60 mL

Reagente Nº 2.....20 mL

Reagente Nº 3.....2 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostático, cronômetro, pipetas, tubos de ensaio. 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 descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente;

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina. O Colesterol HDL é estável no soro por até 7 dias entre 2 e 8 °C.

INTERFERENTES

O ácido ascórbico até 50 mg/dL, a hemoglobina até 500 mg/dL, a bilirrubina até 30 mg/dL e o triglicérides até 1000 mg/dL não alteram os resultados.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Os reagentes 1 e 2 são prontos para uso e são estáveis entre 2 e 8 °C até a data de validade impressa no rótulo. O reagente 3 (calibrador) deverá ser reconstituído com 2 mL de água destilada ou deionizada. Após a adição da água, deixar em repouso por 30 minutos. Agitar suavemente até completa dissolução. Estável por uma semana entre 2 e 8 °C ou por 5 semanas a 20 °C negativos.

TÉCNICA

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

	Branco	Calibrador	Amostra
Reagente Nº 1	300 µL	300 µL	300 µL
Calibrador	---	3 µL	---
Amostra	---	---	3 µL

Homogeneizar e colocar em banho-maria 37 °C por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra (A1) e do Calibrador (C1) em 550 nm (540-560), acertando o zero com o Branco.

	Reagente Nº 2	100 µL	100 µL	100 µL
Reagente Nº 2	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL

Homogeneizar e colocar em banho-maria 37 °C por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra (A2) e do Calibrador (C2) em 550 nm (540-560), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 60 minutos.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

$$\text{HDL Colesterol} = \frac{(A2 - A1)}{(C2 - C1)} \times \text{concentração do calibrador}$$

Os resultados serão expressos em mg/dL.

A reação é linear de 3 até 200 mg/dL.

Para valores maiores que 200 mg/dL, repetir a determinação diluindo a amostra com NaCl 0,85%.

Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Para conversão dos dados no Sistema Internacional (SI), multiplicar o resultado:

$$\text{mg/dL} \times 0,02586 = \text{mmol/L}$$

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

- Não utilizar anticoagulantes que contenham citrato;
- Não expor os reativos à luz.

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.

VALORES DE REFERÊNCIA

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

Colesterol HDL	Desejável	Médio Risco	Alto Risco
Mulheres (mg/dL)	> 65	45 - 65	< 45
Homens (mg/dL)	> 55	35 - 55	< 35

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

RECUPERAÇÃO

A análise de recuperação foi feita com 05 determinações de amostras. As exatidões foram calculadas e se encontraram em boa concordância com os valores de referência, obtendo uma recuperação entre 95% e 103%.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O Kit HDL Direto Bioclin foi comparado com outro método para dosagem de Colesterol HDL comercialmente disponível. Foram realizadas 7 análises e os resultados foram avaliados, tendo obtido o coeficiente de regressão linear: $Y = 1,061966x + 0,949939$ e o coeficiente de correlação 0,996310. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETITIVIDADE

A repetitividade refere-se a 20 determinações sucessivas de Colesterol HDL, utilizando-se 3 amostras com concentrações diferentes, encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	42,5	49,35	24,2
Desvio Padrão (mg/dL)	0,95	1,14	0,52
Coefficiente de variação (%)	2,23	2,30	2,16

REPRODUTIVIDADE

A reprodutividade refere-se 20 determinações de Colesterol HDL, em 3 dias diferentes, com 3 amostras de concentrações diferentes encontrando-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	40,80	48,35	23,90
Desvio Padrão (mg/dL)	1,73	2,36	0,30
Coefficiente de variação (%)	4,23	4,89	1,26

SENSIBILIDADE

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta da presença de Colesterol HDL. A média de 2,993 (mg/dL) com desvio padrão de 0,001 (mg/dL). A sensibilidade, que indica o limite de detecção do Método, que corresponde a média mais 3 vezes o Desvio Padrão, é igual 2,996 (mg/dL).

ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

As lipoproteínas plasmáticas são partículas esféricas constituídas por Colesterol, Triglicérides, Fosfolípidos e Proteínas. Essas partículas são responsáveis pelo transporte de colesterol entre as células periféricas e o fígado. A proporção relativa entre proteínas e lipídios determina a densidade das lipoproteínas - quilomícrons, VLDL, LDL e HDL. A monitoração do Colesterol-HDL em soro é de grande importância devido a correlação inversa entre sua concentração plasmática e o risco de enfermidades coronárias.

NÚMERO DE TESTES

120 testes, utilizando 5 µL de amostra, 0,5 mL de reagente 1 e 0,16 mL de reagente 2.

200 testes, utilizando 3 µL de amostra, 0,3 mL de reagente 1 e 0,10 mL de reagente 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - WILLIAM, P., ROBINSON, D., BAILY, A.. High Density Lipoprotein and Coronary Risk Factor. Lancet, 1:72 (1979).
- 2 - BADIMON, J.J., BADIMON, L., FUESTER, V.. Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma. Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. Journal of Clinical Investigation, 1990; 85: 1234-41.
- 3 - BARR, D.P., RUSS, E.M., EDER, H.A.. Protein-lipid Relationships in Human Plasma. Am. J. Med., 11:480, 1951
- 4 - GOTTO, A.M.. Lipoprotein Metabolism and Etiology of Hyperlipidemia. Hospital Practice, 23: Suppl. 1,4 1988.

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 0315454.

e-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do HDL Direto na ANVISA: 10269360122.

Revisão: Janeiro/11