



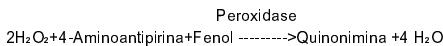
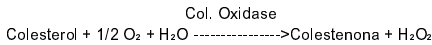
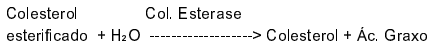
QUIMICOL - Colesterol Oxidase/ Peroxidase

Finalidade:

Reação enzimática para determinação quantitativa do colesterol em amostras de soro e plasma humano. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

Tanto o colesterol livre como o esterificado presentes na amostra originam, segundo as reações descritas a seguir, um complexo colorido que pode ser quantificado por espectrofotometria a 500nm. Temos então a seguinte reação:



Metodologia:

Esterase-Peroxidase

Significado Clínico:

O Colesterol, um esterol encontrado em todos os tecidos animais, possui importantes funções fisiológicas, incluindo síntese de ácidos biliares, hormônios esteróides e membranas celulares. Em decorrência das relações patogênicas evidenciadas entre a hiperlipidemia e a incidência da aterosclerose ganhou importância clínica o estudo dos lipídeos plasmáticos e a dosagem dessas substâncias no sangue. Quando se deseja pesquisar a hiperlipidemia como um dos fatores condicionantes da aterosclerose deve-se utilizar como recurso de triagem a dosagem plasmática de colesterol total e triglicérides, com o paciente fazendo uso de sua dieta habitual. Entretanto, atualmente sabe-se que é necessário conhecer ainda a distribuição das lipoproteínas encarregadas do transporte: HDL (lipoproteínas de alta densidade), consideradas como o fator protetor e LDL (lipoproteínas de baixa densidade), consideradas como o verdadeiro fator de risco. Os valores isolados de colesterol HDL e colesterol LDL não podem ser tomados como índices para previsão de risco, e sim, é necessário compor um perfil lipídico.

Valores aumentados de colesterol são também encontrados no hipotireoidismo, doenças coléstatas do fígado e nas hiperlipoproteinemias dos tipos IIa, IIb e III. Níveis diminuídos são encontrados no hipertireoidismo, desnutrição crônica, anemia sideroblástica e talassemia. Doenças hepáticas graves podem reduzir drasticamente os níveis de colesterol. O nível do colesterol sérico, associado ao fumo e a hipertensão geram fatores de risco de aterosclerose e doença coronariana isquêmica.

Reagentes:

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C e manter ao abrigo da luz. Contém: Pipes 35 mmol/L, colato sódico 0,5 mmol/L, fenol 28 mmol/L, colesterol esterase > 0,2 U/mL, colesterol oxidase > 0,1U/mL, peroxidase > 0,8 U/mL, 4- aminoantipirina 0,5 mmol/L, pH 7,0.

Padrão (cód 3012): Conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa com concentração de colesterol rastreável pelo Padrão Primário Internacional NIST 1951b. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias.

Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade. Não congelar e manter ao abrigo da luz.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". O reagente contém azida sódica como conservante (0,01%). Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se o reagente estiver visualmente turvo, se a absorbância do branco ultrapassar 0,200 quando medido a 500nm (cubeta 1 cm) e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 505nm (490 - 510nm).
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Calibrador e soros controle.
6. Medidor de tempo.

Amostra:

Soro e plasma colhido (como heparina, EDTA, oxalato e fluoreto) recentemente e não hemolisado, o colesterol no soro e no plasma é estável por 7 dias entre 2 - 8°C.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 12 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

Interferências:

Bilirrubina até 10 mg/dL, hemoglobina até 5g/L e triglicérides até 10 g/L, não interferem significativamente no resultado. Anticoagulantes podem produzir resultados falsamente diminuídos, algumas drogas e substâncias afetam a exatidão do colesterol, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 500nm (480 - 520nm)
Tipo de Reação: Ponto final
Direção: Crescente
Relação Amostra/Reativo: 1:100
Vol. Amostra: 10 µL
Vol. Reagente: 1.0 mL
Tempo de Incubação: 5 minutos

Calibração:

Utilizar Quimicolib Ebram ou o padrão que acompanha o kit do cód 3012.

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente. Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	10µl	-	-
Padrão	-	10µl	-
Amostra/S.C.	-	-	10µl
Reagente	1,0ml	1,0ml	1,0ml

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 5 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

3. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 500nm (480 - 520 nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias do padrão, amostra e soro controle. A reação é estável até 2 horas.

* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0.01 mL (10 µL) de amostra a 1.0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorbância contra água. Subtraia este valor da absorbância do paciente para obter a leitura corrigida.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

(Abs. = Absorbância)
(Conc. = Concentração)
Colesterol da Abs. Amostra Conc do
Amostra (mg/dL) = ----- x Padrão (mg/dL)
Abs. Padrão

Exemplo:

Abs. Amostra = 0.40
Abs. Padrão = 0.32
Conc. Padrão = 200 mg/dL

Colesterol Amostra = ----- x 200
0.32

Colesterol Amostra = 250 mg/dL

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 1000 mg/dL. Amostras com valores superiores a 1000 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0,3 e 1000 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações correlativas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados:

2 a 19 anos... < 170mg/dL - Desejável
...De 170 a 199 mg/dL - Limitrofe
...Maior que 200 mg/dL - Alto
20 anos ou acima... < 200mg/dL - Desejável
...De 200 a 239 mg/dL - Limitrofe
...Maior que 240 mg/dL - Alto

Estes valores são da III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e prevenção da Aterosclerose - 2001, são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de Amostras: 52
Intervalo dos resultados 99 - 498 mg/dL
Coeficiente de Correlação: 0,993
Inclinação: 0,95
Intercepta: 2,27 (mg/dL)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	153,2	229,3
D.P. (mg/dL)	1,99	1,06
C.V. (%)	1,30	0,46

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	152,8	221,1
D.P. (mg/dL)	4,19	4,52
C.V. (%)	2,74	2,04

Sensibilidade Metodológica:

0,3 mg/dL

Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade ≥ 0,1 megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 14 x 15mL + 1 x 1,0mL
Linha Hitachi 917: 3 x 65mL
Linha Bulk: 1 x 500mL
Linha Quimisa: 4 x 45mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebtram.com ou www.ebram.com

Referência Bibliográfica:

1. Lieberman, C., Baer. 18:1803 202 (1885)
2. Burchard, H., Cem. Fentr. 81:25 (1890).
3. Flegg, H., Ann. Clinical Biochem. 10: 79 (1973)
4. Richmond, W. Scand. J. Clin. Lab. Invest 29:Suppl. 26, abstr. 3:25 (1972)
5. Allain, C.C., et al. Clin. Chem. 20:470 (1974)
6. Roeschlaue, P. et. Al. Clin. Chem. Klin. Blockem, 12 :226 (1974)
7. Trinder, P., Ann. Clin. Biochem 6:24(1969)
8. Perstein, M.T., et al. J. Microchem. 22:403 (1977)
9. Witte, D.L. et al. Clin. Chem. 20: 1282 (1974)
10. Young, D.S. et al. Clin. Chem. 21:1D (1976)
11. National Institute of Health Publication nº 88-2926 "Detection, Evaluation and Treatment of High Cholesterol In Adults". November (1987).
12. Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed., Atheneu, (1998).
13. Arquivos da EBRAM.

