

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICOL - COLESTEROL	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
-------------------------------	----------------------------------------------------------	--------------------------------

USO

Reação enzimática para determinação quantitativa do colesterol em amostras de soro e plasma humanos. 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, sendo que a intensidade da cor vermelha produzida é diretamente proporcional à quantidade de colesterol na amostra:

Colesterol *Col. Esterase*
esterificado + H₂O -----> Colesterol + Ác. Graxo

Col. Oxidase
Colesterol + O₂ -----> Colest-4-en-3-ona + H₂ O₂

Peroxidase
H₂O₂+4-Aminoantipirina+Ác. Hidroxibenzóico ----->Quinonaimina +4 H₂O

METODOLOGIA

Esterase-Peroxidase

SIGNIFICADO CLÍNICO

O Colesterol, um esteroide encontrado em todos os tecidos animais, possui importantes funções fisiológicas, incluindo síntese de ácidos biliares, hormônios esteroides 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 colestáticas 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.

PRODUTO UTILIZADO

Quimicol – Colesterol MS: 10159820245

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

REAGENTES

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C e manter ao abrigo da luz.

Contém: Colesterol oxidase 400 U/L, lipoproteína lipase 300 U/L, peroxidase 1000 U/L, HBA 10 mM, solução tampão pH 6,75, azida de sódio 0,1%.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICOL - COLESTEROL	Página 2 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	----------------------------------------------------------	-------------------------------

Padrão (cód. 3012): Conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa contendo concentração padrão de colesterol. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto se armazenados de 2 à 8°C 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 ESPECIAIS

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.

AMOSTRA

Soro colhido recentemente e não hemolisado ou plasma colhido com Heparina, o colesterol no soro é estável por 7 dias se armazenado de 2 à 8°C e por 6 meses à -20°C.

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

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

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

PROCEDIMENTO

• Procedimento automático:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente. Aplicação no sistema semiautomático: 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:

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

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	10µL	-	-
Calibrador	-	10µL	-
Amostra/S.C.	-	-	10µL
Reagente	1.0mL	1.0mL	1.0mL

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICOL - COLESTEROL	Página 3 de 4 POP BIOxxx/xx
-------------------------------	----------------------------------------------------------	--------------------------------

- Homogeneizar e colocar em banho - maria (BM) a 37°C por 5 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.
- Zerar o aparelho com o branco do reagente a 500nm (480 520 nm), proceder as leituras registrando as absorvâncias 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 1.0 mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorvância contra água. Subtraia este valor da absorvância 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 amostras menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS

(Abs. = Absorvância)
(Conc. = Concentração)

Colesterol da amostra (mg/dL) =

$$\frac{\Delta \text{ Abs. Amost}}{\Delta \text{ Abs. Padrão}} \times \text{concentração Padrão (mg/dL)}$$

RESULTADOS

2 a 19 anos

< 170 mg/dL - Desejável

De 170 a 199 mg/dL - Limítrofe

Maior que 200 mg/dL - Alto

20 anos ou acima

< 200 mg/dL - Desejável

De 200 a 239 mg/dL - Limítrofe

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.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 750 mg/dL.

Amostras com valores superiores a 750 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 2,7 e 750 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Sensibilidade: 2,7 mg/dL

- Interferências:** Bilirrubina até 4,5 mg/dL, hemoglobina até 400 mg/dL e lipemia (triglicérides) até 1020 mg/dL, não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a exatidão do colesterol, sugerimos consultar Young et al.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICOL - COLESTEROL	Página 4 de 4 POP BIOxxx/xx
-------------------------------	----------------------------------------------------------	--------------------------------

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 enxague da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ mega ohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

REFERÊNCIAS

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. Roeschlau, P. et. Al. Clin. Chem. Klin, Blockem, 12 :226 (1974)
7. Trinder, P., Ann. Clin. Biochem 6:24 (1969)
8. Peristein, M.T., et al. J. Microchem, 22:403 (1977)
9. Wi_e, 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.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

Ver: Set/2020