



QUIMICOL -H- HDL Colesterol

ULTRA-SENSÍVEL

REG. MS: 10159820192

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**
0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110
sac@eb Bram.com | www.ebram.com

Revisão: Ago/2022

FINALIDADE. Reação inibitória espectrofotométrica para determinação quantitativa de HDL colesterol em amostras de soro humano. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO. O princípio do teste é baseado na aceleração da reação do colesterol oxidase e na quebra seletiva do HDL através de um detergente específico. Na primeira reação, o colesterol livre das moléculas, não - HDL (colesterol total, LDL e VLDL), é solubilizado e consumido pelo colesterol oxidase (CO) em uma reação colorimétrica.

No segundo reagente, um detergente específico solubiliza o HDL, permitindo a reação com um acoplador cromógeno, desenvolvendo cor para a determinação quantitativa de HDL -C.

METODOLOGIA. Direto / Ultra-sensível

SIGNIFICADO CLÍNICO. O papel das partículas HDL no metabolismo lipídico é do transporte do colesterol do tecido periférico ao fígado, ou seja, as partículas esféricas de HDL são captadas pelo fígado por endocitose mediada por receptor, e os ésteres de colesterol são degradados. O colesterol assim liberado pode ser reembalado pela lipoproteínas, convertido em ácidos biliares ou secretado na bile para remoção do corpo. Este processo é conhecido como transporte reverso do colesterol e tem sido apresentado como um mecanismo cardíaco protetor. Baixos níveis do HDL-Colesterol têm repetidamente sido associados com um aumento do risco de doenças do coração e doença da artéria coronária. Então, a determinação do HDL colesterol sérico tem sido reconhecida como uma ferramenta útil na identificação de pacientes de altos riscos. O Painel de Tratamento de Adulto do Programa Nacional de Educação do Colesterol (NCEP) recomenda que todos os adultos de 20 anos de idade e acima deveriam ter níveis de colesterol total e HDL colesterol medidos, no mínimo a cada 5 anos para procurar risco de doença coronária.

REAGENTES.

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8°C e mantê-lo ao abrigo da luz. Contém Buffer (pH6.5) 10 mmol/L, TODB 1mmol/L, Ascorbato oxidase 3.0 U/ml, PVS 2 mg/L, PEGME 0.2%, MgCl₂ 2mmol/L. Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8°C e mantê-lo ao abrigo da luz. Contém Buffer (pH6.5) 10 mmol/L, Colesterol Esterase 4 U/ml, Colesterol Oxidase 10 U/ml, Peroxidase 30 U/ml, 4 aminoantipirina 2.5 mmol/L, Detergente 0.5%

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 30 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Calibrador: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: soro humano liofilizado com lipoproteínas de diversas classes incluindo lipoproteína de alta densidade (HDL).

- Verificar a concentração no rótulo do frasco.

MODO DE PREPARO DO CALIBRADOR

1. Golpear o frasco levemente com os dedos para desprender o material liofilizado.
2. Utilizando uma pipeta volumétrica calibrada, adicionar exatamente 1,0 mL de água destilada no frasco.
3. Recolocar a tampa no frasco e deixar em repouso na temperatura ambiente por 30min.
4. Antes de utilizar, inverte suavemente o frasco de 5 a 10 vezes até o liofilizado dissolver totalmente. Após reconstituição, o calibrador possui estabilidade de 07 (sete) dias se armazenado entre 2 - 8°C.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS REQUERIDOS. Este reagente deve ser usado somente para uso de diagnóstico "in vitro".

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.

Reagentes com diferentes lotes não devem ser utilizados em conjunto.

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 apresentar turbidez 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 entre 600 - 700nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Soro controle
6. Cronômetro.

AMOSTRA. Soro livre de hemólise. O HDL colesterol no soro é estável por 6 dias se mantido entre 2 - 8°C ou 1 ano a -70°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 8 horas. Todavia, poderá ser alterado segundo orientação médica.

INTERFERÊNCIAS.

Bilirrubina até 20 mg/dL, Hemoglobina até 500 mg/dL e Ácido Ascórbico até 50 mg/dL, não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do HDL colesterol, sugerimos consultar Young et al.

PARÂMETROS DO SISTEMA:

| | |
|---------------------|-------------|
| Temperatura | 37°C |
| Comprimento de Onda | 600-700nm |
| Tipo de Reação | Ponto final |
| Direção | Crescente |
| Vol. Amostra | 10 µL |
| Vol. Reagente 1 | 0,75 mL |
| Tempo de Incubação | 5 minutos |
| Vol. Reagente 2 | 0,25 mL |
| Tempo de incubação | 5 minutos |

CALIBRAÇÃO. Utilizar calibrador incluso no kit, a concentração de HDL Colesterol no calibrador é rastreável ao material de referência SRM1951.

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 4 (2ª 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:

| Tubos | Branco | Padrão | Calibrador |
|----------------|--------|--------|------------|
| Água destilada | 10µL | - | - |
| Calibrador | - | 10µL | - |
| Amostra S/C | - | - | 10µL |
| Reagente R1 | 0,75mL | 0,75mL | 0,75mL |

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. Adicionar o R2.

Reagente R2 0,25mL 0,25mL 0,25mL

4. 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.

5. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 600 nm (600-700nm), proceder as leituras registrando as absorvâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

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. = Absorvância)

(Conc. = Concentração)

HDL Colesterol Amostra (mg/dL) =

$$\frac{\Delta \text{ Abs. amostra}}{\Delta \text{ Abs. Calibrador}} \times \text{Conc. do Calib (mg/dL)}$$

EXEMPLO.

Abs. da amostra = 0,020

Abs. do calibrador = 0,025

Conc. do calibrador = 58 mg/dL

HDL Colesterol Amostra = 0,020 / 0,025 x 58

HDL Colesterol Amostra = 46,4 mg/dL

Obs: mg/dL x 0.02586 = mmol/L

LINEARIDADE. Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 100 mg/dL.

Amostras com valores superiores a 100 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficar entre de 1,06 a 100 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 corretivas. 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.

Homens: 30 - 70 mg/dL Mulheres: 30 - 85 mg/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. A V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, sugere que laudos laboratoriais referentes aos perfis lipídicos tenham uniformidade em todo território nacional, no tocante aos valores de referência e ao alerta indicativo para o diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar (HF). De acordo com a Diretriz, para adultos acima de 20 anos valores de HDL menores a 40 mg/dL são considerados baixos e significativamente importantes na avaliação de doença coronariana, independentemente dos fatores de risco, e valores maiores a 60 mg/dL são considerados desejáveis para oferecer alguma proteção contra esta doença.

ESTUDOS COMPARATIVOS. Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziu os seguintes resultados estatísticos:

| | |
|----------------------------|---------------------|
| Número de amostras | 30 |
| Intervalo dos resultados | 110,3 - 130,8 mg/dL |
| Coefficiente de correlação | 0,998 |
| Inclinação | 1,0 |
| Intercepta | 0,65 (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) | 20,8 | 99,7 |
| D.P. (mg/dL) | 0,9 | 1,00 |
| C.V. (%) | 3,6 | 1,02 |

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) | 23,6 | 99,5 |
| D.P. (mg/dL) | 1,0 | 2,8 |
| C.V. (%) | 4,2 | 3,1 |

SENSIBILIDADE METODOLÓGICA. 1,06mg/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 US1 mega ohm ou condutividade de £ 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 US 0,1 megaohms ou condutividade UR 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica: R1=6x10mL + R2=2x10mL + Calib=1x1,0mL

Linha Bulk: R1=1x210mL + R2=1x70mL + Calib=1x1,0mL

Linha Quimisat 450: R1=3x45mL + R2=1x45mL + Calib=1x1,0mL

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

1. Castell, W.P. et al. Cholesterol and Other Lipids in Coronary Heart Disease Circulation 55:757
2. Stein, E.A. Myers, G.L. Lipids, Lipoproteins and Apolipoproteins in Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition, Burtis, C. Ashwood, A. (Eds.) CV Mosby Co. 23:1002-83 (1994).
3. Warmick, R. Nguyen, T. Albens, A.A. Comparison of Improved Precipitation Methods for Quantification of High Density Lipoprotein Cholesterol - Clin. Chem. 1985: 31:217-22.
4. Warmick, R. Wood, P. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High Density Lipoprotein Cholesterol, Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, Nº 10, 1996.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocolos for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4 Nº 8, June 1984
6. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, Third Edition, AACC Press (1990)
7. National Institute of Health Publication Nº 01-3670, May 2001.
8. Arquivos da EBRAM.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

| | | |
|---|--|--|
|  CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO |  REAGENTE |  FABRICADO POR |
|  O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES |  DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS) |  NÚMERO DO LOTE |
|  LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A) |  PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO |  NÚMERO DO CATÁLOGO |