



QUIMICOL - Colesterol

Oxidase/Peroxidase

REG. MS: 10159820245

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@ebram.com | www.ebram.com

Revisão: Ago/2022

FINALIDADE. 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 500 nm, sendo que a intensidade da cor vermelha produzida é diretamente proporcional à quantidade de colesterol na amostra:



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 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 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.

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%.

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 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. Cronômetro.

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.

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

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.

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 Quimicalib Ebram Cód.7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit, para kits com padrão. A concentração de colesterol no Quimicalib é rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI.

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:

Tubos	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	10µL	-	-
Padrão	-	10µL	-
Amostra S/C	-	-	10µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

- 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.
- 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 1.0mL 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 amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS.

(Abs. = Absorvância)

(Conc. = Concentração)

Colesterol da amostra (mg/dL) =

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

EXEMPLO.

Abs. Amostra = 0.40

Abs. Padrão = 0.32

Conc. Padrão = 200 mg/dL

0.40

$$\text{Colesterol Amostra} = \frac{0.40}{0.32} \times 200$$

Colesterol Amostra = 250 mg/dL

LINEARIDADE. 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 ficar entre 2,7 e 750 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.

2 a 19 anos

< 170mg/dL - Desejável

De 170 a 199 mg/dL - Limítrofe

Maior que 200 mg/dL - Alto

20 anos ou acima

< 200mg/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.

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

Número de amostras	57
Intervalo dos resultados	29 - 517 mg/dL
Coefficiente de correlação	0,9950
Inclinação	1,045
Intercepta	6,6 (mg/dL)

PRECISÃO. Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 40 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	122,5	266,2
D.P. (mg/dL)	1,8	1,5
C.V. (%)	1,4	0,6

EXATIDÃO. As amostras foram processadas em duplicata por 10 dias consecutivos, duas vezes por dia. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	122,5	266,2
D.P. (mg/dL)	2,8	3,7
C.V. (%)	2,3	1,5

SENSIBILIDADE METODOLÓGICA. 2,7 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.

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- 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 enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL + 1 x 1,0mL





Linha Bulk: 1 x 500mL

Linha Quimimat: 4 x 45mL

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

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