

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICOL – H – HDL COLESTEROL ULTRA-SENSÍVEL	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------

USO

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 reabsorvido pelas lipoproteínas, convertido em ácidos biliares ou secretados na bile para remoção do corpo. Este processo é conhecido como transporte reversivo do colesterol e tem sido apresentado como um mecanismo cárdio protetor. Baixos níveis do HDL- Colesterol têm repetidamente sido associado 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 Adultos 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 provocar risco de doença coronária.

PRODUTO UTILIZADO

Quimicol - H – HDL Colesterol Ultra-Sensível MS: 10159820192

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 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. Contem 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 ate a data de vencimento impressa no rotulo 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. Contem: soro humano liofilizado com lipoproteínas de diversas classes incluindo lipoproteína de alta densidade (HDL).

– Verificar a concentração no rotulo do frasco.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICOL – H – HDL COLESTEROL ULTRA-SENSÍVEL	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------

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 1,0mL 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.
5. Após reconstituição, o calibrador possui estabilidade de 07 (sete) dias se armazenado entre 2 – 8°C.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

Este reagente deve ser usado somente para 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.

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.

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. 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 4 (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	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	10µL	-	-
Calibrador	-	10µL	-
Amostra/S.C.	-	-	10µL
Reagente R1	0.75mL	0.75mL	0.75 mL

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICOL – H – HDL COLESTEROL ULTRA-SENSÍVEL	Página 1 de 4 POPBIOxxx/xx
--------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------

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 0.25 mL 0.25 mL 0.25 mL

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 600nm (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 1,0mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influencia no desempenho do teste.

Salientamos que volumes de amostras menores do que 10µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS

(Abs.= Absorbância)

(Conc.= Concentração)

HDL Colesterol da amostra (mg/dL) ----- x Conc Calibrador (mg/dL)
Abs. amostra / Abs. calibrador

RESULTADOS

Homens: 30 - 70 mg/dL

Mulheres: 30 - 85 mg/dL

Estes valores são dados unicamente como titulo 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 referencia e ao alerta indicativo para o diagnostico 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.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

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 ficarem entre 1,06 a 100 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Sensibilidade: 1,06 mg/dL

- **Interferências:**

Bilirrubina até 20 mg/dL, Hemoglobina até 500 mg/dL, Ácido Ascórbico até 50 mg/dL e Lipemia até 500 mg/dL medida como triglicérides, não interferem significativamente no resultado.

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do HDL colesterol, sugerimos consultar Young et al.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICOL – H – HDL COLESTEROL ULTRA-SENSÍVEL	Página 1 de 4 POPBIOxxx/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 $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

REFERÊNCIAS

1. Castell, W.P. et al. Cholesterol and Other Lipids in Coronary Heart Disease Circulation 55:757 1977.
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.

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

VER: Nov/20