



## 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@ebram.com | www.ebram.com

Revisão: Agosto/2023

**FINALIDADE.** Reação inibitória espectrofotométrica para determinação quantitativa de HDL colesterol em amostras de soro. 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 de HDL-Colesterol têm repetidamente sido associados com um aumento do risco de doenças do coração e doença da artéria 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%, MgCl<sub>2</sub> 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.

#### 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

- 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 600 nm (600-700nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias 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. = Absorbância)

(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. Recomendamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

#### VALORES ESPERADOS.

Caninos: 40 - 157 mg/dL

Felino: 40 - 86 mg/dL

Estes valores 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 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.

- 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 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

#### REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

- Castell, W.P. et al. Cholesterol and Other Lipids in Coronary Heart Disease Circulation 55:757
- 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).
- 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.
- 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.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocolos for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4 Nº 8, June 1984
- Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, Third Edition, AACC Press (1990)
- National Institute of Health Publication Nº 01-3670, May 2001.
- 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
 USO VETERINÁRIO		