

Bioclin

COLESTEROL HDL ENZIMÁTICO

K015

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação do Colesterol HDL. Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimático -Trinder.

As lipoproteínas VLDL (Lipoproteína de muito baixa densidade) e LDL (Lipoproteína de baixa densidade) e os quilomícrons são precipitados com a mistura de Ácido fosfotúngstico e Cloreto de magnésio. Após centrifugação, o Colesterol ligado as Lipoproteínas de alta densidade (HDL) é determinado no sobrenadante por método colorimétrico enzimático.

REAGENTES

Número 1 - Padrão - conservar entre 2 e 8 °C. Contém Colesterol 40mg/dL e n-butanol p.a .

Número 2 - Reagente Precipitante - conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido fosfotúngstico 1,5 mmol/L, Cloreto de magnésio 100 mmol/L.

APRESENTAÇÃO

Reagentes	Volume
Reagente Nº 1.....	2 mL
Reagente Nº 2	25 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37 °C, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, kit de Colesterol Líquido Estável da **Bioclin**. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8° C. O transporte, em temperaturas entre 15 e 30 °C, não deverá exceder 72 (setenta e duas) horas. **Não congelar**. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1 - Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- 2 - Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- 3 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- 4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;
- 5 - O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio;
- 6 - O uso do Reagente de Trabalho do Kit Colesterol Líquido Estável ou do Kit Colesterol Monoreagente da **Bioclin** é de fundamental importância para uma boa performance do sistema;

- 7 - Determinar o fator periodicamente e a cada lote do produto;
- 8 - O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança, de acordo com a legislação vigente.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, colhido após jejum de 12 a 14 horas. O Colesterol HDL é estável no soro por 7 dias entre 15 e 30°C e 14 dias entre 2 e 8 °C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

Precipitação das VLDL, LDL e quilomícrons.

Em tubo de centrifuga, pipetar:

Soro.....	250 µL
Reagente Precipitante Nº 2.....	250 µL

Agitar no Vortex ou manualmente durante 1 minuto. Centrifugar a 3500 rpm durante 15 minutos. Esta etapa é de fundamental importância para obtenção de resultado correto. O sobrenadante límpido contém Colesterol HDL e deve ser pipetado imediatamente após a centrifugação, para evitar resultado falsamente elevado.

Determinação do Colesterol HDL

Utilizar o Reagente de Trabalho do Kit de Colesterol Líquido Estável ou do Kit Colesterol Monoreagente da **Bioclin**.

Marcar 3 tubos de ensaio : B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir :

	Branco	Padrão	Amostra
Sobrenadante	—	—	50 µL
Reagente Nº 1	—	50 µL	—
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 500 nm (490-540), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

Para efeito de cálculo, o Padrão do Colesterol é equivalente a 80 mg/dL, devido à diluição prévia da amostra com o Precipitante.

$$\text{HDL (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da Amostra} \times 80}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o método do Fator de calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{80}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância do teste} \times \text{Fator de Calibração}$$

A concentração do Colesterol VLDL e LDL pode ser calculada segundo a equação de Friedewald. Este cálculo poderá ser utilizado para amostras cuja concentração de Triglicérides não ultrapasse 400 mg/dL.

$$\text{Colesterol VLDL} = \text{Triglicérides} / 5$$
$$\text{Colesterol LDL} = \text{Colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

Para amostra lipêmica ou com sobrenadante turvo, diluir a amostra 1:2 com Cloreto de sódio 0,85% e repetir a precipitação. Multiplicar o resultado obtido por 2. Se o sobrenadante permanecer turvo, a amostra não poderá ser utilizada.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Manter sempre a relação de 1:1 entre a amostra e o Precipitante. Algumas substâncias, como o Ácido ascórbico, Hemoglobina acima de 150 mg/dL, Bilirrubina acima de 20 mg/dL e Triglicérides acima de 600 mg/dL, interferem na reação.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência, em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Colesterol HDL em populações sadias do sexo masculino e feminino.

	Desejável	Médio risco	Alto risco
Colesterol LDL	< 130	130-159	>160
Colesterol HDL mulheres	> 65	45-65	< 45
Colesterol HDL homens	> 55	35-55	< 35

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Dados Estatísticos

Referem-se a 20 (vinte) determinações de Colesterol HDL em dias diferentes, utilizando 2 (dois) soros controle :

N	Média	DP	CV	
Soro Controle 1	2040,1	0,972,41%
Soro Controle 2	20	61,3	1,65	2,69%

ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

A determinação das lipoproteínas de alta densidade (HDL) e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) desempenham papel importante na prevenção e terapia de cardiopatias coronarianas.

As HDL são capazes de captar o Colesterol dos tecidos periféricos e reconduzi-lo ao fígado a fim de degradá-lo e excretá-lo. Este mecanismo, denominado transporte reverso do Colesterol, constitui a teoria da anti-aterogenicidade do HDL, onde baixas concentrações de HDL estão diretamente relacionadas com a incidência de doenças cardiovasculares.

NÚMERO DE TESTES

100 Testes/250 µL de amostra/0,25 mL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALLAIN, C. C., and al. Clin. Chem., 1974, 20-470.
- 2 - TONKS, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, 1983.
- 3 - TRINDER, P., Ann. Clin. Biochem, 1969, 6-24.
- 4 - CARL, A. B. And EDWARD, R. A.; Tietz Textbook of Clinical Chem. 2 nd. ed.; 1994, 1002-1081.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 031 5454.

e-mail sac@bioclin.com.br

Número de registro na ANVISA: 10269360082.

Revisão: Março/09