

Método

Colorimétrico.

Finalidade

Sistema para a determinação do Colesterol HDL no soro ou plasma, por método de precipitação seletiva das lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL) por reação de ponto final.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

Princípio

As Lipoproteínas VLDL (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade) e LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade) são precipitadas na presença da solução 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.

Significado Clínico

O HDL efetua o transporte reverso do colesterol, isto é, transporta colesterol dos tecidos do corpo humano ao fígado. Com isso diminui a quantidade de colesterol no sangue ou aquele presente em células, diminuindo os riscos do surgimento de doenças que a hipercolesterolemia provoca, como doença arterial coronariana (DAC). A taxa de Colesterol HDL mantém uma relação inversa com o fator de risco de DAC, ou seja, quanto maior o seu teor menor o risco de DAC. Assim, o colesterol HDL exerce um efeito protetor contra a aterosclerose. O predomínio da enfermidade coronariana é muito maior em indivíduos com níveis baixos de HDL do que em indivíduos com teores elevados.

Exercícios físicos podem aumentar o Colesterol HDL, assim como algumas drogas: lovastatina, ácido nicotínico, ciclofenil, cimetidina, etanol, estrogênios, terbutalina. Valores baixos de Colesterol HDL são encontrados em indivíduos obesos, de vida sedentária, fumantes, diabéticos, na colestase, hepatopatia, arteriosclerose e coronariopatia.

Reagentes

Reagente Nº 1 - Precipitante - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Fosfotúngstico 1,5 mmol/L e Cloreto de Magnésio 100 mmol/L.

Reagente Nº 2 - Padrão - Conservar entre 2 e 30°C. Manter vedado para evitar evaporação. Contém: Colesterol 40 mg/dL, Azida Sódica 15 mmol/L e conservante.

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não exceda 30°C, até um limite de 120 horas. **Não congelar.**

Cuidados Especiais e Precauções

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analisador bioquímico semiautomático ou espectrofotômetro;
- Reagente de Cor (1) do kit Colesterol Ref. BA082 da Bioanalítica;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiros, estantes;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro;
- Banho-maria.

Amostra

Soro ou plasma (Heparina/EDTA). O colesterol HDL é estável por 7 dias armazenada entre 2 e 8°C, 30 dias a 20°C negativos, quando livres de contaminação.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

As concentrações do colesterol HDL no sangue são influenciadas por fatores como ingestão de álcool, dieta, atividades físicas e tabagismo.

Num mesmo indivíduo pode haver diferenças devido a variação biológica. Estima-se que essa variação seja em torno de 7,5%. Esses efeitos podem ser controlados com a média dos resultados de várias amostras para o mesmo indivíduo ou através da padronização das condições de preparo do paciente e da colheita da amostra.

Concentrações de bilirrubina até 14,89 mg/dL, triglicérides até 1000 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de hemoglobina maior que 279 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

Preparação dos Reagentes

Os reagentes estão prontos para uso.

Nota: Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

Procedimento Técnico

Precipitação das VLDL e LDL

Atenção - Manter sempre a relação Amostra/Precipitante igual a 1:1.

Em um tubo de ensaio pipetar 0,25 mL de amostra (soro/plasma) e 0,25 mL de Reagente Nº 1 - Precipitante.

Agitar fortemente por 1 minuto. Centrifugar a 3500 RPM por 15 minutos para obter um sobrenadante límpido. Pipetar o sobrenadante imediatamente com cuidado para não ressuspender o precipitado para evitar resultados falsamente elevados.

Determinação do HDL

Identificar 3 tubos de ensaio: B (Branco), T (Teste), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra (sobrenadante)	-----	0,1 mL	-----
Reagente Nº 2 - Padrão	-----	-----	0,1 mL
Reagente de Cor (1) Ref. BA082	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 10 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 500 nm (490 - 510 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 60 minutos.

Cálculos

Na precipitação, o soro é diluído 1:2 com o Precipitante (1) e necessita-se corrigir essa diluição para obtenção de resultados corretos. Para tanto, na realização dos cálculos, o valor do padrão é corrigido para o dobro de sua concentração real, ou seja, 80 mg/dL.

$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = (\text{Absorbância do Teste} \div \text{Absorbância do Padrão}) \times \text{Concentração do Padrão}$

$\text{Fator de Calibração} = \text{Concentração do Padrão} \div \text{Absorbância do Padrão}$

Exemplo com Padrão

Absorbância do Teste = 0,288

Absorbância do Padrão = 0,382

Concentração do Padrão = 80 mg/dL

$\text{Colesterol HDL} = (0,288 \div 0,382) \times 80 = 60,3 \text{ mg/dL}$

Exemplo com Fator de Calibração

$Fc = 80 \div 0,382 = 209,4$

$\text{Colesterol HDL} = 0,288 \times 209,4 = 60,3 \text{ mg/dL}$

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = 1,203 + 0,992 * Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,997.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo Colesterol HDL, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 1,1450 mg/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0986 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 1,4407 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 160 mg/dL. Para amostras com valores acima de 170 mg/dL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 150 mmol/L (0,85%), repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	21,30	34,70	119,68
Desvio Padrão (mg/dL)	0,67	1,57	1,89
Coefficiente de Variação (%)	3,17	4,52	1,58

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	25,40	48,70	135,05
Desvio Padrão (mg/dL)	0,52	1,96	3,42
Coefficiente de Variação (%)	2,04	4,02	2,54

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Adulto

Colesterol Total	Colesterol HDL	Colesterol LDL
< 200 - Desejável	< 40 - Baixo	< 100 - Ótimo
200 a 239 - Limítrofe	≥ 60 - Desejável	100 a 129 - Limiar ótimo
≥ 239 - Elevado	-----	130 a 159 - Limiar elevado
-----	-----	160 a 189 - Elevado
-----	-----	≥ 190 - Muito elevado

Crianças e Adolescentes

Colesterol Total	Colesterol HDL	Colesterol LDL
< 170 - Desejável	> 40 - Desejável	< 110 - Desejável
170 a 199 - Limítrofe	< 35 - Baixo	100 a 129 - Limítrofe
≥ 239 - Elevado	-----	≥ 130 a 159 - Elevado

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI) multiplicar por 0,026.

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
 - A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens /cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megaohms ou condutividade < 10 microsiemens.
- No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. Clin. Chem. 1981; 27: 493-501.
- Virella MFL, Stones P, Ellis S, Colwell G. Clin Chem 1977;23:882-884.
- Tonks, DB., Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostics Reagents Division, Scarborough, Canadá, 1972.
- Warnick RJ, Handbook of lipoprotein testing. AACC Press, Washington, 1997.
- Alain CA, Poon LS, Cahn CSG, Richmond W, Fu PC. Clin Chem 1974; 20:470.
- Good NE, Winger GD, Winter W, Connolly TN, Izawa S, Singh RMM. Biochemistry 1966; 5:467.
- Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentações

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA085-50	50 mL	2 x 25 mL	1 x 3 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União
CEP: 31160-360 - Belo Horizonte MG - Brasil
Tel. +55 31 3657-0051
www.bioanalitica.com.br
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br
CNPJ: 20.264.948/0001-61 - Indústria Brasileira
SAC: 0800 006 8111
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.