

Método

Enzimático colorimétrico.

Finalidade

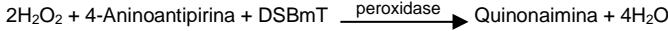
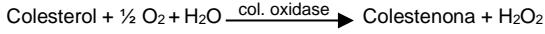
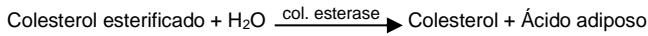
Sistema para determinação quantitativa e direta da lipoproteína de alta densidade (HDL) em amostras de soro e plasma.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Princípio

O colesterol das proteínas de baixa densidade (LDL), as de muito baixa densidade (VLDL) e os quilomicrons é hidrolisado pela colesteroloxidase mediante uma reação enzimática acelerada não formadora de cor.

O detergente presente no Substrato (2) solubiliza o colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL) da amostra. O colesterol de HDL é quantificado espectrofotometricamente através das reações acopladas descritas a seguir.


Significado Clínico

As HDL participam na captação do colesterol dos tecidos e no seu transporte ao fígado onde se elimina em forma de ácidos biliares. Existe uma correlação positiva entre as concentrações baixas de HDL e na incidência de aterosclerose, base do infarto de miocárdio e acidentes cerebrovasculares. Existem diversos estados patológicos ou influências ambientais associados com os níveis reduzidos de HDL: doenças hepatocelulares agudas ou crônicas, hiperalimentação intravenosa, mal nutrição severa, diabete, anemia crônica, alterações mieloproliferativas, doença de Tangier, analfalipoproteinemia, estresse agudo, alguns medicamentos e o tabaco. O diagnóstico clínico não deve ser realizado considerando o resultado de um único ensaio, senão que deve integrar os dados clínicos e de laboratório.

Reagentes:

R.1 – Tampão Enzimático: Tampão Good, pH 6,6 100mmol/L; Cloreto de sódio 170 mmol/L; Colesterol oxidase 1,0 KU/L; Colesterol esterase 1,5 KU/L, Catalase 1,0 KU/L; Ascorbato Oxidase 3,5 KU/L; N-(2-hidroxi-3-sulfopronil)-3,5-dimetoxianilina (HDAOS) 0,6 mmol/L, anticorpos anti beta-lipoproteína humana 5,0 mL/L.

R.2 - Substrato: Butanol 10% v/v; Triton X100 0,1% v/v; em concentração equivalente a 20 mg/dL de HDL Colesterol

R.3 - Calibrador: Soro Bovino e azida sódica 0,095%. Material Liofilizado. Verificar o valor da concentração impresso no rótulo do frasco.

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem externa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evitado a contaminação durante o uso. A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. Os produtos não deverão exceder as temperaturas entre 2 e 30°C por até 120 horas (5 dias) para fins de transporte. O calibrador após reconstituído deve ser armazenado entre 2 e 8 °C por até 10 dias ou 30 dias a -20 °C. Indicações de deterioração: Presença de partículas, turvação

Cuidados Especiais e Precauções

- 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 ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analisador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiras, estantes;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro;
- Banho-maria.

Amostra

Soro ou plasma (EDTA/Heparina). O analito é estável 3 dias a 2 – 8 °C, ou 30 dias armazenada a -20 °C, quando livres de contaminação. Observa-se a necessidade de jejum de 12 horas antes da coleta da amostra.

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

Interferências e Limitações

Hemoglobina (10 g/L), lipemia (triglicérides 18 g/L) e bilirrubina (20 mg/dL) não interferem.

Citrato Na > 5000 mg/L; EDTA-2Na > 1000mg/L, Heparina > 750 mg/L; Fluoreto > 2000 mg/L e Oxalato Na > 3000 mg/L interferem na dosagem.

Preparação dos Reagentes

Reagentes prontos para uso.

O Calibrador HDL soro humano liofilizado. Reconstituir com 1,0 mL de água destilada. Esperar 30 minutos. Homogeneizar cuidadosamente por inversão. Estável por até 10 dias armazenado entre 2 e 8 °C ou 30 dias a -20 °C congelado em alíquotas. O valor da concentração é rastreável segundo o procedimento de medição de referência de CDC (Centers for Disease Control and Prevention).

Procedimento Técnico
Equipamentos Automáticos

Para determinação em equipamento automático, verificar no site www.bioanalitica.com.br

	Branco	Amostra / Calibrador
Amostra / Calibrador	-	10 µL
Água Deionizada	10 µL	-
R.1 Tampão Enzimático	750 µL	750 µL

Homogeneizar e incubar a 37 °C por 5 minutos

R.2 Substrato	250 µL	250 µL
R.1 Tampão Enzimático	750 µL	750 µL

Homogeneizar levemente e incubar a 37 °C por 5 minutos. Ler as absorbâncias da Amostra e do Calibrador contra o Branco.

Cálculos

A concentração de colesterol HDL é calculada a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Abs Amostra/Cal} = (\text{Abs Amostra/Cal} - \text{Abs Branco})$$

$$\text{Conc. Amostra} = \text{Conc. Cal} \times \frac{\text{Abs Amostra}}{\text{Abs Calibrador}} \text{ (mg/dL)}$$

Utilizando fator de calibração (FC): $FC = \text{Cc/Ac}$

Características do Desempenho
Comparação de Métodos

Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças significativas ao serem comparados com os reagentes de referência.

Os detalhes do estudo comparativo estão disponíveis sob solicitação.

Sensibilidade

Uma amostra não contendo Colesterol HDL, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média e o desvio padrão foram calculados a partir de 20 determinações. A sensibilidade que indica o limite de detecção do método é 1,97 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 150 mg/dL. Para amostras com valores acima de 150 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

Concentração média	CV	n
32,9 mg/dL = 0,85 mmol/L	0,8 %	20
50,6 mg/dL = 1,31 mmol/L	0,5 %	20

Reprodutibilidade

Concentração média	CV	n
32,8 mg/dL = 0,85 mmol/L	1,3 %	40
50,0 mg/dL = 1,30 mmol/L	1,5 %	40

Valores de Referência Perfil Lipídico

Valores de referência do perfil lipídico e valor de alvo terapêutico segundo o risco cardiovascular para adultos >20 anos.

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/ dL)	Categoria Referencial
Colesterol Total*	< 190	< 190	Desejável
HDL- C	> 40	> 40	Desejável
			Categoria de Risco
LDL-C	< 130	< 130	Baixo
	< 100	< 100	Intermediário
	< 70	< 70	Alto
	< 50	< 50	Muito Alto
Não HDL-C	< 160	< 160	Baixo
	< 130	< 130	Intermediário
	< 100	< 100	Alto
	< 80	< 80	Muito Alto

CT* >310 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar (HF).

Valores de referência do perfil lipídico para crianças e adolescentes.

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/ dL)
Colesterol Total*	< 170	< 170
HDL- C	> 45	> 45
LDL-C	< 110	< 110
Não HDL-C	< 120	< 120

CT* >230 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar (HF).

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 megahoms 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

1. Warnick GR Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. Clin Chem 2001; 47: 1579-96.
2. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
- 6 - 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	Reagente 3
BA259-80	80 mL	1 x 60 mL	1 x 20 mL	1 x 1 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.