

INSTRUÇÕES DE USO (Versão Dez/24)

COLESTEROL HDL

Método com precipitação para a determinação enzimática do Colesterol HDL.

FINALIDADE

O conjunto Colesterol HDL é um sistema que se destina à separação do colesterol ligado à fração HDL no soro humano. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO DE AÇÃO

A mistura ácido fosfotúngstico/cloreto de magnésio precipita quilomicrons, lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL) sem alterar a solubilidade das lipoproteínas de alta densidade (HDL). Após centrifugação, recolhe-se o líquido sobrenadante que contém a fração HDL cujo conteúdo em colesterol (Colesterol HDL) é determinado pelo método colorimétrico enzimático.

SIGNIFICADO CLÍNICO

O colesterol é o principal esteroide do organismo, estando presente em todas as células como um componente estrutural das membranas e das lipoproteínas (HDL, VLDL e principalmente, LDL). É também o precursor na formação dos hormônios esteroides pelas gônadas e córtex adrenal. Cerca de 70 a 75% do colesterol plasmático encontra-se na forma de éster e 25 a 30% existe como colesterol livre. Além do colesterol absorvido a cada dia pelo tubo gastrointestinal, que é denominado colesterol exógeno, grande quantidade, designada como colesterol endógeno, é formada nas células corporais. A aterosclerose caracteriza-se pelo acúmulo de lipídeos dentro e ao redor das células no interior das artérias e está associada com a proliferação celular e fibrosa provocando o estreitamento do lúmen do vaso. O desenvolvimento da aterosclerose está ativa em todos os indivíduos e permanece sem qualquer manifestação por décadas. Subitamente pode-se manifestar por dor torácica, infarto agudo do miocárdio ou morte súbita. Valores acima do preconizado indicam um maior risco de doença coronariana. Os valores não devem ser interpretados isoladamente, mas em conjunto com os exames correlatos, para uma estratificação do risco de forma mais precisa. As causas de dislipidemia secundária podem ser uso de medicamentos (em especial diuréticos, betabloqueadores, corticóides, anabolizantes), diabetes melito, hipotireoidismo, síndrome nefrótica, insuficiência renal crônica, alcoolismo, icterícia obstrutiva. Especial atenção deve ser dada à obesidade pela sua frequente comorbidade com a síndrome purimetabólica.

REAGENTES

Apresentação com 50 mL:

- 1. Precipitante:** 01 frasco com 50 mL de solução aquosa contendo ácido fosfotúngstico 1,50 mmol/L e cloreto de magnésio 54 mmol/L. Conservar entre 2-8°C.
- 2. Padrão:** 01 frasco com 5,0 mL de padrão contendo colesterol 20 mg/dL (0,52 mmol/L) em solução aquosa e azida sódica 0,1 g/dL. Conservar entre 2-8°C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro
Centrífuga
Banho-maria
Cronômetro
Vidraria
Pipetas manuais ou automáticas
Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

- 1.As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.
- 2.Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- 3.Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C.
- 4.Não congelar.
- 5.Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens.
- 6.Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados na faixa de temperatura entre 15-25°C, até um limite de 48 horas.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- 1.Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- 2.Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
- 3.O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, serem calibrados corretamente e receberem manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- 4.Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
- 5.Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- 6.Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
- 7.Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.
- 8.O **Padrão (2)** é fornecido em concentração usual fixa. O desempenho do ensaio pode ser afetado se este reagente for modificado ou não for armazenado nas condições recomendadas.
- 9.Ver cuidados no armazenamento e transporte dos reagentes.
- 10.Usar luvas descartáveis quando manusear reagentes.
- 11.Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
- 12.Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro.

- 1.A amostra sanguínea deve ser obtida com o paciente em jejum de 12 horas.
- 2.Sob refrigeração (2-8°C), o colesterol HDL no soro é estável por 3 dias.
- 3.Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.
- 4.Usar luvas descartáveis durante a manipulação.
- 5.As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.
- 6.Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.

PROCEDIMENTO

Os reagentes estão prontos para uso.

A. Precipitação: Pipetar em tubo de ensaio 0,25 mL de soro e adicionar 0,25 mL de **Precipitante**.

Agitar vigorosamente durante 30 segundos e deixar em repouso por 10 minutos na temperatura ambiente. Centrifugar durante 15 minutos a 3000 rpm. Pipetar o sobrenadante límpido **imediatamente** após a centrifugação.

Proceder à determinação do colesterol HDL utilizando o método enzimático para determinação do colesterol total, como descrito abaixo. Usar o kit Colesterol Total KATAL para a etapa de colorimetria.

B. Colorimetria: Separar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Sobrenadante	-	0,1 mL	-
Padrão	-	-	0,1 mL
Reagente de cor	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria a 37°C durante 10 minutos. Determinar as absorbâncias do teste e do padrão em 500 nm acertando o zero com o branco. A cor formada é estável por 60 minutos. Para espectrofotômetros que requeiram volumes de leitura superiores aos indicados, usar 0,20 mL de Amostra ou Padrão e 2,0 mL de Reagente Enzimático.

CÁLCULOS

- Colesterol HDL (mg/dL) = (Absorbância do Teste ÷ Absorbância do Padrão) x 40*

***QBS:** O valor 40 leva em conta a diluição do soro na etapa de precipitação.

- Fator de calibração = 40 ÷ Absorbância do Padrão

- Colesterol HDL (mg/dL) = Absorbância do Teste x Fator

Exemplo:

- Absorbância do teste = 0,365

- Absorbância do padrão = 0,285

- Colesterol HDL (mg/dL) = (0,365 ÷ 0,285) x 40 = 51 mg/dL

- Fator de calibração = 40 ÷ 0,285 = 140

- Colesterol HDL (mg/dL) = 140 x 0,365 = 51 mg/dL

Cálculo das frações LDL e VLDL através da equação de Friedewald (válida apenas para valores de Triglicérides abaixo de 400 mg/dL):

- Colesterol VLDL = [Triglicérides] ÷ 5

- Colesterol LDL = Colesterol total - (Colesterol HDL + Colesterol VLDL)

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

VALORES DE REFERÊNCIA

Colesterol LDL	Desejável	Limítrofe	Elevado
De 2 a 19 anos	<110 mg/dL	110-129 mg/dL	≥ 130 mg/dL
>19 anos	<100 mg/dL	100-159 mg/dL	≥ 160 mg/dL

	Desejável	Limítrofe	Elevado
Colesterol Total	<200 mg/dL	200-239 mg/dL	≥ 240 mg/dL

Colesterol HDL	Desejável
De 2 a 9 anos	≥ 40 mg/dL
De 10 a 19 anos	≥ 35 mg/dL
>20 anos	≥ 40 mg/dL

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 99%

Exatidão: A comparação com método similar, que também utiliza a metodologia do ácido fosfotúngstico/cloreto de magnésio, já validado, mostrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,996 a partir de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $Y=0,99X-0,95$, que demonstra uma exatidão de 99%.

Precisão:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados.

Repetibilidade	Amostra
Média	33,65
Desvio Padrão	1,08
Coefficiente de Variação (%)	3,23

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	34,1
Desvio Padrão	1,65
Coefficiente de Variação (%)	4,84

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorvância em 500 nm igual a 0,007 em cada acréscimo de 1 mg/dL na concentração de colesterol HDL. O limite de detecção do método é igual a 4,5 mg/dL

INTERFERENTES

Amostras lipêmicas podem apresentar sobrenadante turvo. Neste caso, diluir o soro 1:2 com NaCl 0,85% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado final por 2. Hemólise acentuada e bilirrubina acima de 10 mg/dL interferem com o teste.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Friedewald, W.T. et al : Clin. Chem. 18:707,1977
2. Warnick, R.G. et al : Clin. Chem. 2:217,1985
3. Bergmeyer, H.U. (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press 2nd ed., p 148,1985
4. Virella, M.F.L. et al : Clin. Chem.23:882,1977
5. Kostner, G.M., et al : Clin.Chem. 25(6):939,1979
6. Katal : Dados de arquivo.

APRESENTAÇÃO

50 mL	Volume
1.Precipitante	1 x 50 mL
2.Padrão	1 x 5 mL

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

- 1.A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407

e-mail: sac@katal.com.br

 Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG - Brasil - CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga - CRBio 076936/04-D

ANVISA: 10377390081

Data da última revisão: 17/12/2024

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS <i>IN VITRO</i>	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote