



COLESTEROL HDL DIRETO

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Enzimático/Colorimétrico.

FINALIDADE:

Kit para a determinação quantitativa da fração HDL do Colesterol em soro ou plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

Anticorpos anti beta-lipoproteína humana presentes no reagente 1, ligam-se as lipoproteínas (LDL, VLDL e Quilomícrons). A fração HDL permanece livre. Ao ser adicionado o reagente 2, apenas o colesterol HDL sofre a ação enzimática da colesterol oxidase e colesterol esterase, formando peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio em presença de peroxidase forma um complexo azul ao reagir com a 4-aminoantipirina e o N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina. A intensidade da coloração formada é diretamente proporcional a quantidade de colesterol HDL presente na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

O colesterol HDL remove o colesterol dos tecidos e o transporta até o fígado onde é metabolizado em ácidos biliares. O HDL é um fator de proteção se seus valores estiverem dentro dos limites desejáveis. Evidências clínicas indicam que existe uma forte correlação inversa entre os níveis de colesterol HDL e o risco de aterosclerose. As demais frações, LDL e VLDL são fatores de risco quando acima do desejável e estão relacionados a elevação do risco de aterosclerose. Exercícios físicos podem elevar a concentração da fração HDL do colesterol e reduzir as demais.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2 e 8 °C

R1 - Enzimático: Tampão Good, pH 6,6 100mmol/L; Cloreto de sódio 170 mmol/L; Colesterol esterase 1,5KU/L, Colesterol oxidase 1,0 KU/L; Catalase 1,0KU/L; Ascorbato Oxidase 3,5KU/L; N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina (HDAOS) 0,6mmol/L, anticorpos anti beta-lipoproteína humana 5,0 mL/L.

R2 - Substrato: Butanol 10% v/v; Triton X100 0,1% v/v; em concentração equivalente a 20 mg/dL de HDL colesterol

R3 - Calibrador: Soro matriz proteica liofilizado contendo HDL. O valor da concentração está impresso no rótulo do frasco.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados nas temperaturas de 2 a 8 °C se bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso. O calibrador após reconstituído deve ser armazenado a -20 °C por até 30 dias, evitar a repetição no processo de congelamento e descongelamento do calibrador.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 2 e 8 °C e em sua embalagem original.

PREPARO DOS REAGENTES:

Os reagentes R1 e R2 estão prontos para uso. O calibrador deve ser reconstituído adicionando 1,0 mL de água deionizada e agitar cuidadosamente. Aguardar 30 minutos e agitar cuidadosamente por inversão.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele, mucosas e olhos. Se em contato, enxaguar abundantemente com água e consultar um médico;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- A limpeza dos materiais utilizados é de grande importância. A vidraria utilizada deve ser criteriosamente limpa e seca;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostatazador na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro;

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

• SORO e PLASMA

A amostra é estável por até 3 dias se conservada entre 2 e 8 °C, ou 30 dias se armazenado a -20 °C. É necessário jejum de 12 horas antes da coleta da amostra.

INTERFERÊNCIAS

Valores de anticoagulantes acima de 1000mg/L EDTA-2Na, 5000mg/L Na-CITRATO; 750mg/L Heparina; 2000mg/L NaF e 3000mg/L Na-Oxalato interferem na dosagem.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações:

- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro. Deve-se tomar extremo cuidado com resíduos de detergente na vidraria;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Leitura do teste:

- Comprimento de onda: 570 a 610 nm;
- Cubeta: 1 cm;
- Temperatura: 37 °C;
- Medida: Contra o reagente branco. Somente um reagente branco por série é necessário.

3. Esquema de pipetagem

Pipetar dentro das cubetas ou tubos.

	Branco	Amostra/Calibrador
Amostra/Calibrador	-	10 µL
Água Deionizada	10 µL	-
R1 – Enzimático	750 µL	750 µL
Homogeneizar e incubar a 37 °C por 5 minutos.		
R2 - Substrato	250 µL	250 µL

Homogeneizar suavemente e incubar a 37 °C por 5 minutos. Ler as absorbâncias do calibrador e amostras contra o reagente branco.

4. Cálculos

$$A_{\text{amostra/cal}} = (A_{\text{amostra/cal}} - A_{\text{branco}})$$

$$C_{\text{amostra}} = C_{\text{cal}} \times \frac{A_{\text{amostra}} (\text{mg/dL})}{A_{\text{calibrador}}}$$

Utilizando fator de calibração (FC):

$$FC = C_c / A_c$$

4.1 Exemplo com calibrador:

Ccal = 50 mg/dL;
Abranco = 0,061;
Aamostra = 0,213;
ACal = 0,184;

$$C_{\text{amostra}} = 50 \times \frac{(0,213 - 0,061)}{(0,184 - 0,061)}$$

$$C_{\text{amostra}} = 50 \times \frac{0,151}{0,123} = 61,4 \text{ mg/dL}$$

4.2 Exemplo com fator de calibração:

Ccal = 50 mg/dL;
Abranco = 0,061;
Aamostra = 0,213;
ACal = 0,184;

$$FC = \frac{50}{(0,184 - 0,061)} = 406,5$$

$$C_{\text{amostra}} = 406,5 \times (0,213 - 0,061) = 61,4 \text{ mg/dL}$$

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO:

O kit para a dosagem de Colesterol HDL da VIDA Biotecnologia foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes dentre esses soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

1. Linearidade da reação:

A reação é linear até a concentração de Colesterol HDL de 150 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com solução de Cloreto de Sódio a 0,9% e efetuar nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado. Recomenda-se inicialmente a diluição 1+1.

2. Valores de referência

Lípides	Com jejum	Sem jejum	Referencial
Colesterol Total †	< 190	< 190	Desejável
HDL-C	> 40	> 40	Desejável
Triglicérides	< 150	> 175 ‡	Desejável
LDL-C	< 130	< 160	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

† Colesterol total > 310 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar; ‡ Quando os níveis de triglicérides estiverem acima de 440 mg/dL (sem jejum) o médico solicitante faz outra prescrição para a avaliação de triglicérides com jejum de 12 horas e deve ser considerado um novo exame de triglicérides pelo laboratório clínico. Valores de referência e de alvo terapêutico de acordo com o risco cardiovascular estimado para adultos com mais de 20 anos.

Estes valores devem ser utilizados como orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

3. Sensibilidade

1,97 mg/dL de Colesterol HDL.

4. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Colesterol HDL Direto da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

4.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	30	64,91	0,28	0,43%
SC2	30	129,57	1,09	0,84%
SC3	30	52,19	0,73	1,39%

4.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	MÉDIA	DP	CV%
SC1	10	61,72	0,47	0,76%
SC2	10	132,71	1,58	1,19%
SC3	10	58,19	0,82	1,41%

5. Controle de Qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Colesterol HDL Direto da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo em mg/dL	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	62,3	63,8	102,4%
SC2	53,7	55,2	102,7%

Todo soro controle contendo valores determinados pelo método Enzimático

direto pode ser empregado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/250-080	R1 – ENZIMÁTICO	1 X 60,0 mL	80
	R2 – SUBSTRATO	1 x 20,0 mL	
	R3 - CALIBRADOR	1 x 1,0 mL	
100/250-240	R1 – ENZIMÁTICO	2 X 90,0 mL	240
	R2 – SUBSTRATO	2 x 30,0 mL	
	R3 - CALIBRADOR	1 x 1,0 mL	
100/250-480	R1 – ENZIMÁTICO	2 X 180 mL	480
	R2 – SUBSTRATO	2 x 60 mL	
	R3 - CALIBRADOR	1 x 1 mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - SACHIKO, I. et al. A new direct method for measuring HDL-cholesterol which does not produce any biased values. J. Med. Pharm. Sci. v.37, p.1385-1388, 1997.
- 2 - GORDON, T. et al. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease – The Framingham study. Am J. Med. v.62, n.5, p.707-714, 1977.
- 3 - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose. Arq. Bras. Cardiol. v.77, supl. III p.1-48, 2001.
- 4 - YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 5 - WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981
- 6- Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose. Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2017 ;30 (VI): 466 – 468 Tabela 1.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

CNPJ: 11.308.834/0001-85
Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br
Departamento de Serviços Associados | (31)34663351; dsa@vidabiotecnologia.com.br
Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D
Reg. M.S.: 80785070043
Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote