

## Finalidade

Método enzimático para a determinação de colesterol em soro ou plasma.

## Significado Clínico

O colesterol é tanto absorvido pelo intestino, quanto sintetizado pelo organismo. É um componente da membrana celular onde fica entre os "braços" do ácido graxo das moléculas lipídicas e aumenta a rigidez da estrutura da membrana. O excesso de colesterol é secretado na bile, parte como ácidos e sais biliares, parte como colesterol inalterado (que pode ser reabsorvido).

O aumento do colesterol (hipercolesterolemia) ocorre na refeição gordurosa recente, doença hepática ou biliar, síndrome nefrótica, diabetes melito, síndrome de Cushing e hipotireoidismo.

Paradoxalmente, a disfunção hepática grave está associada, às vezes, a concentrações plasmáticas de colesterol anormalmente baixas. Concentrações baixas também foram relatadas em casos de hipertiroidismo.

## Fundamento do método

A sequência de reação é a seguinte:

ésteres do colesterol  $\xrightarrow{\text{CHE}}$  colesterol + ácidos graxos

colesterol + O<sub>2</sub>  $\xrightarrow{\text{CHOD}}$  colesteno-3-ona + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4-AF + aceitador  $\xrightarrow{\text{POD}}$  coloração vermelha

## Reagentes Fornecidos

**S. Padrão:** solução de colesterol 200 mg/dL (2 g/L).

**A. Reagente A:** frascos contendo colesterol esterase (CHE), colesterol oxidase (CHOD), peroxidase (POD), 4-aminofenazona (4-AF) e tampão Good, contendo fenol e colato de sódio, nas seguintes concentrações:

|                      |            |
|----------------------|------------|
| CHE.....             | ≥ 100 U/L  |
| CHOD.....            | ≥ 100 U/L  |
| POD.....             | ≥ 1000 U/L |
| 4-AF.....            | 0,2 mmol/L |
| Good.....            | 50 mmol/L  |
| Fenol.....           | 15 mmol/L  |
| Colato de sódio..... | 0,2 mmol/L |

## Reagentes não fornecidos

- **Laboral Vet** da Laborlab para a técnica automática. Pode ser empregado também nas calibrações com a técnica manual.

## Instruções de Uso

**Reagentes fornecidos:** prontos para uso.

## Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico *in vitro* veterinário.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

## Estabilidade e instruções de armazenamento

**Reagentes fornecidos:** estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não manter sob temperaturas elevadas durante períodos prolongados.

## Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Descartar os reagentes quando as leituras do Branco estiverem acima de 0,160 D.O.

## Amostra

Soro, plasma.

- Coleta: obter a amostra de forma habitual.
- Aditivos: caso a amostra seja plasma, utilizar heparina como anticoagulante.
- Estabilidade e instruções de armazenamento: o colesterol no soro é estável durante um período de até 1 semana sob refrigeração e 2 meses congelado, sem acrescentar conservantes.

## Interferências

Os anticoagulantes comuns, exceto a heparina, interferem na determinação.

Os soros com hemólise visível produzem valores falsamente aumentados e, portanto, não devem ser utilizados.

Não são observadas interferências por bilirrubina até 8,0 mg/dL, ácido ascórbico até 75 mg/L, ácido úrico até 20,0 mg/dL, nem hemólise ligeira.

## Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro;
- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados;
- Tubo ou cuba espectrofotométricos de faces paralelas;
- Banho-maria a 37°C e,
- Cronômetro.

## Condições da reação

- Comprimento de onda: 505 nm em espectrofotômetro ou fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm).
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de Reação: 5 minutos.
- Volume de amostra: 10 µL
- Volume de Reagente: 1,0 mL
- Volume final da reação: 1,01 mL

Os volumes de Amostra e de Reagente A podem ser modificados proporcionalmente (Ex.: 20 µL de Amostra + 2 mL de Reagente A).

## Procedimento

Em três tubos ou cubas espectrofotométricas marcados como B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

|                      | B      | P      | D      |
|----------------------|--------|--------|--------|
| Padrão ou Calibrador | -      | 10 µL  | -      |
| Amostra              | -      | -      | 10 µL  |
| Reagente A           | 1,0 mL | 1,0 mL | 1,0 mL |

Colocar em banho-maria durante 5 minutos a 37°C ou 20 minutos a temperatura ambiente (25°C). Depois, ler no espectrofotômetro a 505 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm), zerando o aparelho com o Branco.

## Estabilidade da mistura de reação final

A cor é estável por 30 minutos, portanto, a absorbância deve ser lida dentro deste tempo.

## Cálculo dos Resultados

Colesterol (mg/dL) = D x f, onde  $f = \frac{200 \text{ mg/dL}}{P}$

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Absorbância da amostra: 0,287

Absorbância do Padrão: 0,265

Fator =  $\frac{200 \text{ mg/dL}}{0,265} = 755$

Colesterol (mg/dL) = 0,287 x 755 = 217 mg/dL

## Conversão de unidades

Colesterol (mg/dL) = colesterol (g/L) x 100

Colesterol (mmol/L) = colesterol (g/L) x 2,59

Colesterol (g/L) = colesterol (mmol/L) x 0,39

## Método de Controle de Qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol Vet 1 e 2) com atividades conhecidas de colesterol, com cada determinação

## Valores de Referência

### Espécie (mg/dL)

|        |           |
|--------|-----------|
| Canina | 135 – 270 |
| Felina | 95 – 130  |
| Bovino | 80 – 120  |
| Equina | 75 – 150  |

Os valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população de animais atendida, seus próprios valores de referência.

## Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Os redutores diminuem a resposta de cor, enquanto que os oxidantes colore o **Reagente A** aumentando os Brancos.

Os detergentes, metais pesados e cianetos são inibidores enzimáticos.

Não utilizar o Padrão em analisadores automáticos, visto que existem diferenças entre sua tensão superficial e a do soro, resultado do dissolvente empregado na preparação.

É recomendável realizar uma nova calibração semanal ou cada vez que sejam obtidos valores fora da faixa aceitável dos controles (**Laborcontrol Vet 1 e 2** da Laborlab).

## Desempenho

- a) **Reprodutibilidade:** processando 20 determinações simultaneamente de uma amostra canina e outra equina com valores dentro do intervalo de referência, obteve-se o seguinte:

Amostra Canina:

| Concentração | D.P. | C.V. |
|--------------|------|------|
| 82,85        | 1,69 | 2,04 |
| 123,05       | 2,06 | 1,67 |

Amostra Equina:

| Concentração | D.P. | C.V. |
|--------------|------|------|
| 57,50        | 0,76 | 1,32 |
| 69,15        | 2,78 | 4,02 |

- b) **Limite de detecção:** depende do fotômetro empregado. Para a leitura de 0,001 D.O. a variação mínima de concentração detectável será aproximadamente de 0,63 mg/dL.
- c) **Linearidade:** a reação é linear até 500 mg/dL. Para valores superiores, diluir a metade da solução com o Branco e repetir a leitura multiplicando o resultado final por 2.

## Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração do aparelho deve ser utilizado o **Laborcal Vet** da Laborlab.

## Apresentação

1 x 250 mL **Reagente A**

1 x 4,0 mL **Padrão**

(Cód. 1774084)

## Referências

- Abell, L.L. et al. - J. Biol. Chem. 195:357 (1952).
- Allain, C.C. et al. - Clin. Chem. 20:470 (1974).
- American Health Foundation - Position statement on diet and coronary heart disease - pág. 255 (1972).
- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 87/3:459 F (1978).
- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem. 6/24 (1969).
- Coniglio, R.L. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201, (1989).
- González, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003.
- Kerr, Morag G. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária 2ª ed., Roca: São Paulo, 2003.

## Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

## SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.

Estrada do Capão Bonito, 489

Guarulhos/SP – Brasil – CEP: 07263-010

CNPJ: 72.807.043/0001-94

Atendimento ao cliente:

+55(11) 2480-0529/+55(11) 2499-1277

[sac@laborlab.com.br](mailto:sac@laborlab.com.br)

[www.laborlab.com.br](http://www.laborlab.com.br)

Revisão 01

Julho, 2020