

HDL Colesterol

Direto

Finalidade

Método colorimétrico sem precipitação para a determinação de HDL-colesterol em soro ou plasma.

Significado clínico

As lipoproteínas plasmáticas são partículas arredondas que contêm quantidades variáveis de colesterol, triglicerídeos, fosfolípidios e proteínas. Os fosfolípidios, o colesterol livre e as proteínas constituem a superfície externa da partícula lipoproteica, sendo que suas cores contêm em maior quantidades colesterol esterificado e triglicerídeos. Estas partículas solubilizam e transportam o colesterol na corrente sanguínea.

A proporção relativa de proteína e lipídios determina a densidade destas lipoproteínas e provém as bases sobre as quais pode-se estabelecer uma classificação. As 4 classes mais importantes são (em ordem crescente de densidade): quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baixa densidade (LDL - Low Density Lipoproteins) e lipoproteínas de alta densidade (HDL - High Density Lipoproteins). Diferentes estudos clínicos demonstraram que as variadas classes de lipoproteínas têm diferentes e variados efeitos no risco de doenças coronárias.

A função principal das HDL no metabolismo lipídico é a captação e transporte de colesterol desde os tecidos periféricos ao fígado com um processo conhecido como transporte reverso do colesterol (mecanismos cardioprotetivos).

O HDL-colesterol baixo, associa-se com um alto risco de doença cardíaca. Porém, a determinação de HDL-colesterol é uma ferramenta útil na identificação de indivíduos com alto risco.

Fundamentos do método

Este é um método homogêneo que utiliza dois reagentes. Durante a primeira etapa da reação é solubilizado e consumido o colesterol livre ou unido a proteínas distintas da HDL em uma reação que envolve à colesterol oxidase (CHO), peroxidase (POD) e N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina dissódica (TOOS), o que origina um produto sem cor. Em uma segunda etapa, as HDL são especificamente solubilizadas por um detergente. O HDL-colesterol é liberado para reagir com colesterol esterase (CHE), colesterol oxidase e TOOS, dando um produto colorido:

LDL, VLDL, quilomícrons $\xrightarrow[\text{CHO}]{\text{TOOS}}$ produtos incolores de LDL, VLDL e quilomícrons

HDL-colesterol $\xrightarrow{\text{detergente}}$ HDL solubilizada

HDL-colesterol $\xrightarrow[\text{CHE}]{\text{CHO}}$ colest-4-en-3-ona + H₂O₂

H₂O₂ + TOOS + 4-AAP $\xrightarrow{\text{POD}}$ desenvolve cor

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de colesterol oxidase (< 1000 U/L), peroxidase (< 1300 U/L) e N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina dissódica (TOOS) (< 1 mM), em tampão de Good, com estabilizante e conservador apropriados.

B. Reagente B: solução de detergente (< 2%), colesterol esterase (< 1500 U/L) e 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), em tampão de Good, com estabilizante e conservador apropriados.

Calibrador: soro humano liofilizado contendo lipoproteínas de diferentes tipos incluindo HDL. A concentração é variável de acordo com o lote (vide concentração no rótulo).

Reagentes não fornecidos

Água destilada.

Instruções de uso

Reagentes A e B: prontos para uso.

Calibrador: reconstituir com o volume de água destilada indicado no rótulo. Tampar o frasco e deixar em repouso durante 5 minutos. Ajudar a dissolver homogeneizando o frasco suavemente, evitando a formação de espuma. Não agitar.

Precauções

- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
- Não pipetar com a boca.
- O Calibrador foi examinado para HBsAg, HCV e anticorpos contra os vírus HIV 1/2 resultando não reativo. Deve ser utilizado como se tratando de material infectante.
- 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

Os Reagentes fornecidos são estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Uma vez utilizados, os reagentes são estáveis durante 3 semanas sob refrigeração (2-8°C).

Uma vez reconstituído, o Calibrador é estável por 1 semana sob refrigeração (2-8°C) ou 1 mês congelado (-20°C). Não congelar e descongelar repetidamente.

Amostra

Soro ou plasma

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

b) Aditivos: heparina ou EDTA quando for utilizado plasma como amostra.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: centrifugar e separar o soro do coágulo dentro das 3 horas após a coleta. Caso a amostra não seja processada na hora, ela pode ser conservada durante 1 semana sob refrigeração (2-8°C).

Interferências

Não são observadas interferências por ácido ascórbico até 100 mg/dL, hemoglobina até 1000 mg/dL, bilirrubina até 60 mg/dL, nem triglicerídeos até 1200 mg/dL. (Vide "Limitações do procedimento").

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas e doenças neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Material volumétrico para medir os volumes indicados.
- Analisador automático.

Procedimento

(Analisador automático)

A seguir, detalha-se um procedimento geral para HDL Colesterol Direto em um analisador automático. Quando utilizada a técnica para um analisador em partícula, suas instruções de trabalho devem ser seguidas.

Amostra ou Calibrador	3 uL
Reagente A	300 uL

Incubação durante 5 minutos a 37°C. Leitura de absorbância a 600/700 nm (Branco de Amostra).

Reagente B	100 uL
------------	--------

Incubação durante 5 minutos a 37°C. Leitura do resultado a 600/700 nm (concentração de HDL-colesterol).

Calibração

O Calibrador deve ser processado junto com as amostras e da mesma maneira que estas. As concentrações do Calibrador permanecem em torno dos níveis do critério médico e são variáveis lote a lote (vide concentração no rótulo). Ingressar o valor de concentração do calibrador cada vez que o lote é mudado.

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com concentrações conhecidas de HDL colesterol, com cada determinação.

Valores de referência

Os valores esperados de HDL colesterol são os seguintes:

Homens: 30 - 70 mg/dL

Mulheres: 30 - 85 mg/dL

O painel de expertos do National Cholesterol Education Program (NCEP) fornece os seguintes valores de HDL colesterol:

40-60 mg/dL

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência. No entanto, valores maiores de 40 mg/dL são considerados recomendáveis e os acima de 60 mg/dL são considerados de proteção. Porém, valores de HDL colesterol por baixo de 40 mg/dL são como índice significativo de risco de doença cardíaca coronária.

Limitações do procedimento

Vide "Interferências"

Não devem ser utilizados anticoagulantes que contenham citrato.

Não expor os reagentes à luz.

Conservar os reagentes conforme às instruções.

Amostras com concentrações de triglicerídeos superiores a 1200 mg/dL, devem ser diluídas com solução fisiológica.

Desempenho

a) **Reprodutibilidade:** processando simultaneamente replicados de uma mesma amostra em um mesmo dia, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
32,9 mg/dL	± 0,6 mg/dL	1,9 %
50,7 mg/dL	± 0,9 mg/dL	1,7 %
101,3 mg/dL	± 1,5 mg/dL	1,5 %

Processando a mesma amostra em dias diferentes, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
32,8 mg/dL	± 0,8 mg/dL	2,4 %
50,0 mg/dL	± 1,2 mg/dL	2,5 %
100,1 mg/dL	± 2,3 mg/dL	2,3 %

b) **Linearidade:** a reação é linear até 200 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com solução fisiológica e multiplicar o resultado pelo fator de diluição utilizado.

c) **Limite de detecção:** a mínima concentração quantificável de HDL colesterol é 4 mg/dL.

d) **Recuperação:** acrescentando quantidades conhecidas de HDL colesterol a distintos soros, obteve-se uma recuperação entre 98,4 e 99,0%.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para as instruções de programação deve-se consultar o manual de uso do analisador.

Apresentação

1 x 60 mL Reagente A
1 x 20 mL Reagente B
1 x → 1 mL Calibrador
(Cód. 1770160)

1 x 30 mL Reagente A
1 x 10 mL Reagente B
1 x → 1 mL Calibrador
(Cód. 1770161)

2 x 60 mL Reagente A
2 x 20 mL Reagente B
1 x → 1 mL Calibrador
(Cód. 1779702)

Referência

- Castelli, W. et al. - Circulation, 55:767 (1977).
- Gordon, T. et al. - Am. J. Med. 62:707 (1977).
- Warnick, G. - Clin. Chem. 41:10, 1427 (1995).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunder Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.
- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).

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 Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Européia



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



HDL Colesterol

Direto

Fin y uso

Método colorimétrico homogéneo para la determinación de HDL-colesterol en suero o plasma

Significación clínica

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas que contienen cantidades variables de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y proteínas. Los fosfolípidos, el colesterol libre y las proteínas constituyen la superficie externa de la partícula lipoproteica, mientras que su core contiene en mayor proporción colesterol esterificado y triglicéridos. Estas partículas solubilizan y transportan el colesterol en el torrente sanguíneo.

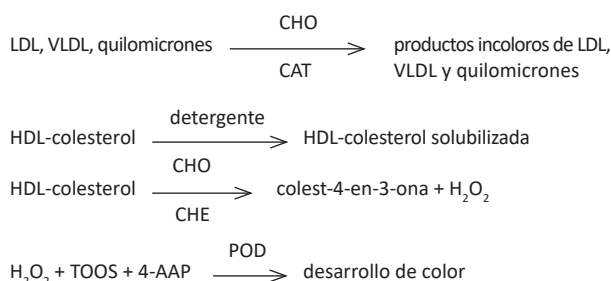
La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre las cuales establecer una clasificación. Estas clases son: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baja densidad (LDL - Low Density Lipoproteins) y lipoproteínas de alta densidad (HDL - High Density Lipoproteins). Numerosos estudios clínicos han demostrado que las diferentes clases de lipoproteínas tienen distintos y variados efectos en el riesgo de enfermedad coronaria.

La función principal de las HDL en el metabolismo lipídico es la captación y transporte de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado en un proceso conocido como transporte reverso de colesterol (mecanismo cardioprotectivo).

El HDL-colesterol bajo, está asociado con un alto riesgo de enfermedad cardíaca. Por este motivo la determinación de HDL-colesterol es una herramienta útil en la identificación de individuos de alto riesgo.

Fundamentos del método

El presente es un método birreactivo homogéneo para la determinación de HDL-colesterol. En la primera etapa de la reacción se solubiliza y consume el colesterol libre asociado a proteínas distintas de HDL, en una reacción que involucra a colesterol oxidasa (CHO) y catalasa (CAT), dando lugar a un producto no coloreado. En una segunda etapa, un agente específico (azida) bloquea la acción de CAT y un detergente solubiliza específicamente las HDL. El HDL-colesterol es así liberado para reaccionar con colesterol esterasa (CHE), CHO, 4-AAP (4-amino antipirina) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina disódica (TOOS), dando un producto coloreado que se lee a 540-600 nm.



Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución de colesterol oxidasa (< 3000 U/l), peroxidasa (< 5000 U/l), catalasa (< 3000 U/l) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) (< 1 mM), en buffer de Good, con estabilizante y conservante apropiados.

B. Reactivo B: solución de detergente (< 2%), colesterol esterasa (< 3000 U/l) y 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), en buffer de Good, con azida sódica (0.9 g/l) y estabilizante apropiado.

Calibrador: suero humano liofilizado conteniendo lipoproteínas de diversos tipos incluyendo HDL. La concentración es variable lote a lote (ver título en el rótulo).

Reactivos no provistos

- Agua destilada.

Instrucciones para su uso

Reactivos A y B: listos para usar.

Calibrador: reconstituir con el volumen de agua destilada indicado en el rótulo. Tapar el vial y dejar en reposo durante 5 minutos. Ayudar a la disolución rotando el vial suavemente, evitando la formación de espuma. No agitar.

Precauciones

- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- No pipetear con la boca.
- El Calibrador ha sido examinado para HBsAg, HCV y anticuerpos contra HIV 1/2, encontrándose no reactivo. No obstante, debe procesarse como si se tratara de material infeccioso.

- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar. Una vez abiertos los reactivos son estables durante 3 semanas en refrigerador (2-10°C).

Una vez reconstituido, el Calibrador es estable 1 semana en refrigerador (2-10°C) o 1 mes congelado (-20°C), evitando descongelar y volver a congelar.

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.

b) Aditivos: heparina o EDTA cuando se utilice plasma como muestra.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por ácido ascórbico hasta 24 mg/dl, hemoglobina hasta 1000 mg/dl, bilirrubina hasta 80 mg/dl, ni triglicéridos hasta 3000 mg/dl (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO).

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

c) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: centrifugar y separar el suero del coágulo dentro de las 3 horas posteriores a la extracción. De no procesar las muestras inmediatamente, las mismas pueden ser conservadas durante 1 semana en refrigerador (2-10°C).

Material requerido (no provisto)

- Material volumétrico para medir los volúmenes indicados

- Analizador automático

Procedimiento

(analizadores automáticos)

A continuación se detalla un procedimiento general para **HDL Colesterol directo** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica para un analizador en particular seguir las instrucciones de trabajo del mismo.

Muestra o Calibrador	3 ul
Reactivo A	300 ul

Incubación durante 5 minutos a 37°C. Lectura de absorbancia a 540-600 nm (Blanco de Muestra).

Reactivo B	100 ul
-------------------	--------

Incubación 5 minutos a 37°C. Lectura del resultado a 540-600 nm (concentración de HDL-colesterol).

Calibración

El Calibrador debe procesarse de la misma manera que las muestras. Las concentraciones del Calibrador se encuentran alrededor de los niveles de decisión médica y son variables lote a lote (ver título en el rótulo). Ingresar el valor de concentración del calibrador cada vez que se cambie de lote.

Método de control de calidad

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Laborcontrol 1** y **Laborcontrol 2** de Laborlab) con concentraciones conocidas de HDL-colesterol, con cada determinación.

Valores de referencia

Los valores esperados de HDL-colesterol son los siguientes:

Varones: 30 - 70 mg/dl

Mujeres: 30 - 85 mg/dl

El panel de expertos del National Cholesterol Education Program (NCEP) provee los siguientes valores de HDL-colesterol: 40 - 60 mg/dl

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. No obstante, valores mayores de 40 mg/dl se consideran recomendables y los que se encuentren por encima de 60 mg/dl se han considerado como protectivos. Por el contrario, valores de HDL-colesterol por debajo de 40 mg/dl se consideran como índice significativo de riesgo de enfermedad cardíaca coronaria.

Limitaciones del procedimiento

No deben emplearse anticoagulantes que contengan citrato.

No exponer los reactivos a la luz.

Conservar los reactivos de acuerdo a las instrucciones.

En caso de muestras con concentraciones de triglicéridos mayores a 3000 mg/dl, diluir las mismas con solución fisiológica.

Performance

a) Precisión: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra en un mismo día se obtiene lo siguiente:

Nivel	D.S.	C.V.
24,1 mg/dl	± 0,20 mg/dl	0,8%
50,9 mg/dl	± 0,34 mg/dl	0,7%
75,9 mg/dl	± 0,93 mg/dl	1,2%

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvo:

Nivel	D.S.	C.V.
24,1 mg/dl	± 0,49 mg/dl	2,0%
50,9 mg/dl	± 0,45 mg/dl	0,9%
75,9 mg/dl	± 1,84 mg/dl	2,3%

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 150 mg/dl. Para valores superiores, diluir la muestra con solución fisiológica y multiplicar el resultado por el factor de dilución empleado.

c) Límite de cuantificación: la mínima concentración cuantificable de HDL-colesterol es de 4 mg/dl.

d) Recuperación: agregando cantidades conocidas de HDL-colesterol a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 98,4 y 99,0%.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Presentación

1 x 60 mL Reactivo A

1 x 20 mL Reactivo B

1 x → 1 mL Calibrador

(Cód. 1770160)

1 x 30 mL Reactivo A

1 x 10 mL Reactivo B

1 x → 1 mL Calibrador

(Cód. 1770161)

2 x 60 mL Reactivo A

2 x 20 mL Reactivo B

1 x → 1 mL Calibrador

(Cód. 1779702)

Bibliografía

- Castelli, W. et al. - Circulation, 55:767 (1977).
- Gordon, T. et al. - Am. J. Med. 62:707 (1977).
- Warnick, G. - Clin. Chem. 41:10, 1427 (1995).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AAC Press, 3rd ed., 1990.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunderson Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.
- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).
- CLSI. User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-second Edition. CLSI document EP15-A2 [ISBN 1-56238-574-7]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP6-A [ISBN 1-56238-498-8]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
- CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition (Interim Revision). CLSI document EP09-A2-IR. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- Glick, M.R., K.W. Ryder, and S.A. Jackson, Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. Clin Chem, 1986. 32(3): p. 470-475.

SÍMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



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
www.laborlab.com.br