

COLESTEROL HDL

Instruções de Uso

Ref.: 13

MS 10009010026

Finalidade . Sistema para determinação do Colesterol HDL através da precipitação seletiva das lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL), por reação de ponto final.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . As lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são quantitativamente precipitadas e, após centrifugação, o colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade (Colesterol HDL) é determinado no sobrenadante.

Características do sistema . Na seleção de um sistema para dosar o Colesterol HDL, a Labtest optou pelo ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio, que precipitando seletiva e quantitativamente as VLDL e LDL, permitem a obtenção de resultados comparáveis aos do método de referência.

Após centrifugação, o Colesterol HDL é determinado no sobrenadante utilizando o sistema enzimático Colesterol Liquiform Labtest (Ref. 76).

O sistema de medida colorimétrica é facilmente adaptável à maioria dos analisadores automáticos capazes de medir uma reação de ponto final em 500 nm.

Metodologia . Labtest.

Reagentes

1. **[R1]** - Precipitante - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Contém ácido fosfotúngstico 1,5 mmol/L e cloreto de magnésio 54 mmol/L.

2. **[CAL]** - Padrão 20 mg/dL - Armazenar entre 2 - 30 °C.

Contém colesterol 0,52 mmol/L e azida sódica 14,6 mmol/L. Armazenar bem vedado para evitar evaporação.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos à contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

Não utilizar o Reagente 1 - Colesterol Liquiform - Labtest (Ref.76) quando sua absorbância, medida contra a água em 500 nm, for igual ou maior que 0,300 ou quando mostrar-se turvo ou com sinais de contaminação.

O padrão contém azida sódica que é tóxica. Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão e no caso de contato com os olhos, deve-se lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar o reagente.

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes.

Materiais necessários e não fornecidos

1. Banho-maria mantido à temperatura constante (37 °C).
2. Fotômetro capaz de medir, com exatidão, a absorbância entre 490 e 540 nm.
3. Pipetas para medir amostras e reagentes.
4. Cronômetro.
5. Centrifuga com capacidade superior a 3500 rpm.
6. Reagente para determinação de colesterol.

Influências pré-analíticas . Considera-se que a variação biológica seja em torno de 7,5%. Assim, em uma série de repetições da dosagem em um mesmo indivíduo, dois terços dos resultados estarão entre $\pm 7,5\%$ do valor médio. Portanto, a variação biológica se constitui no fator mais importante da variabilidade total do colesterol HDL. Os efeitos da variação biológica podem ser controlados até certo ponto através da padronização das condições de preparo do paciente e da coleta da amostra, mas o colesterol HDL não pode ser estimado com confiança através de um ensaio de uma única amostra. Várias amostras devem ser obtidas e a média dos resultados pode ser considerada como a concentração usual do colesterol HDL ou, mais exatamente, pode ser considerada a faixa usual de resultados para o indivíduo.

Amostra

Usar soro ou plasma (heparina-lítio e EDTA). Amostras com citrato ou oxalato não devem ser usadas porque produzem resultados falsamente diminuídos.

As amostras de soro ou plasma não devem permanecer entre 15 - 30 °C por mais de 14 horas. Quando as medições não são completadas dentro de 14 horas, as amostras devem ser armazenadas entre 2 - 8 °C por 7 dias e por 30 dias a 20 °C negativos.

Deve-se armazenar em temperaturas ≤ 70 °C negativos quando houver necessidade de preservação por períodos maiores de tempo. Evitar congelamentos e descongelamentos repetidos. Amostras descongeladas devem ser bem misturadas antes da utilização. Não usar vórtex ou similar. Não usar amostras com sinais de contaminação microbiana.

De acordo com o Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico não há obrigatoriedade de realização de jejum de doze horas pelo paciente para a determinação de lipídeos. As concentrações de colesterol total, HDL-C, não-HDL-C e LDL-C não diferem significativamente se realizados em estado pós-prandial ou em jejum¹².

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Concentrações de bilirrubina até 5 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL e triglicérides até 750 mg/dL não produzem interferências significativas.

Concentrações de bilirrubina acima de 5 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos.

Concentrações de triglicérides acima de 750 mg/dL produzem resultados falsamente elevados.

Para avaliar a concentração aproximada da hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e medir a absorbância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{415} \times 467$$

Limitações do método . Manter sempre a relação Amostra/Precipitante igual a 1:1.

Após a centrifugação, remover o sobrenadante límpido dentro de 15 minutos para evitar resultados falsamente elevados.

Amostras lipêmicas e, ocasionalmente, amostras não lipêmicas podem apresentar o sobrenadante turvo. Neste caso, diluir a amostra 1:2 com NaCl 150 mmol/L e repetir a precipitação. Multiplicar o resultado final por 2. Caso o sobrenadante permaneça ainda turvo a amostra não pode ser utilizada para determinar o colesterol HDL.

Algumas amostras, principalmente lipêmicas, podem apresentar o sobrenadante límpido com uma camada na sua superfície que não deve ser pipetada, para evitar resultados falsamente elevados.

Procedimento

Ver limitações do método.

Precipitação das VLDL e LDL.

Em um tubo 12 x 75, adicionar:

Soro: 0,25 mL
Precipitante: 0,25 mL

Agitar vigorosamente durante 30 segundos. A agitação sugerida é fundamental para obtenção de resultados consistentes. Centrifugar a 3.500 rpm por pelo menos 15 minutos para obter um sobrenadante límpido. Pipetar o sobrenadante límpido imediatamente após a centrifugação, tomando o cuidado para não ressuspender o precipitado, a fim de evitar resultados falsamente elevados.

Colorimetria . Ver observações 1, 2 e 3.

Utilizar com o Reagente 1 - Colesterol Liquiform - Labtest (Ref. 76).

Tomar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Sobrenadante	----	0,1 mL	----
Padrão (nº2)	----	----	0,1 mL
Reagente 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Misturar e incubar em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos. O nível da água no banho deve ser superior ao nível do reagente nos tubos de ensaio. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 500 nm ou filtro verde (490 a 540) acertando o zero com o branco. A cor é estável por 60 minutos.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado.

Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculo se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos . Devido a diluição 1:2 aplicada às amostras durante o procedimento de precipitação das VLDL e LDL, o valor do Padrão para cálculo dos resultados deve ser corrigido para 40 mg/dL.

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 40$$

Exemplo

Absorbância do Teste = 0,290

Absorbância do Padrão = 0,320

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = \frac{0,290}{0,320} \times 40 = 36$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, pode-se utilizar o método do fator.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{40}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = \text{Absorbância do Teste} \times \text{Fator}$$

Exemplo

$$\text{Fator} = \frac{40}{0,320} = 125$$

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = 0,290 \times 125 = 36$$

Unidades Convencionais: mg/dL

Unidades SI (mmol/L) = Unidades Convencionais x 0,026

Rastreabilidade do sistema . A calibração do sistema é rastreável ao Standard Reference Material (SRM) 911 do National Institute of Standards and Technology (NIST).

Linearidade

O resultado da medição é linear até 200 mg/dL. Quando for obtido um valor igual ou maior que 200 mg/dL, diluir a amostra 1:2 com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova medição e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de controle, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e/ou desvios da calibração.

Sugere-se procurar atender como limites máximos de controle as especificações propostas por NCEP¹⁰ para coeficiente de variação $\leq 4,00\%$, erro sistemático (bias) $\leq 5,00\%$, erro total $\leq 12,8\%$.

Valores referenciais do perfil lipídico^{12,13} . Os valores referenciais e de alvo para perfil lipídico, para adultos maiores de 20 anos, são apresentados de acordo com o estado metabólico do paciente que precede a coleta da amostra, sem jejum e com jejum de 12 horas.

Valores referenciais e de alvo terapêutico conforme avaliação de risco cardiovascular estimado pelo médico solicitante do perfil lipídico 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.

Valores referenciais desejáveis 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

*CT > 230 mg/dL há probabilidade de Hipercolesterolemia Familiar.

Conversão para unidades internacionais

HDL Colesterol: Unidades convencionais (mg/dL) x 0,026 = SI (mmol/L)

Características do desempenho¹¹

Exatidão . Em duas amostras com concentrações de colesterol HDL iguais a 28 e 54 mg/dL foram adicionadas quantidades diferentes do analito, obtendo-se recuperações entre 95 e 100%. O erro sistemático proporcional médio obtido em um valor de 60 mg/dL foi igual a 1,2 mg/dL ou 2,0%.

Especificidade . O método proposto foi comparado com um método similar utilizando 80 amostras com valores situados entre 7 e 86 mg/dL. A comparação resultou na equação da regressão: $y = 1,337 + 0,932x$ e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,993. O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado no nível de decisão (60 mg/dL) foi igual a 2,74 mg/dL ou 4,5%.

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e pacientes hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Repetitividade - Imprecisão intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	40	0,60	1,5
Amostra 2	20	59	0,49	0,8

Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	40	0,83	2,0
Amostra 2	20	58	0,99	1,7

Sensibilidade metodológica . Uma amostra protéica não contendo colesterol HDL foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio tendo sido encontrado um valor igual a 0,40 mg/dL, equivalente à média de 20 ensaios mais dois desvios padrão. Utilizando-se a absorvância do padrão como parâmetro, o limite de detecção fotométrica é de 0,12 mg/dL, correspondendo a uma absorvância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Uma amostra com valor igual a 92 mg/dL foi utilizada para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando fatores de diluição que variaram de 1,2 a 2,0 encontraram-se recuperações entre 93 e 103%.

Significado clínico . Não há dúvida de que o colesterol é um fator de risco para DCI e que ele marcha - junto com o fumo, hipertensão e intolerância à glicose - como um dos quatro grandes fatores de DCI. Estudos prospectivos e retrospectivos não deixam dúvidas da existência de uma interrelação curvilínea entre os níveis de colesterol sérico, mais especificamente LDL e VLDL, e a incidência de DCI.

Em 1977 ficou demonstrado que o Colesterol HDL tem um efeito protetor contra a DCI. Os estudos de Framingham revelaram que os níveis do Colesterol HDL são inversamente proporcionais à prevalência de DCI.

Está bem estabelecido que níveis elevados de Colesterol LDL estão associados ao risco aumentado de DCI. Também, não há dúvida de que tanto o Colesterol Total quanto as frações LDL e VLDL podem ser diminuídas com dieta ou medicamento. A redução de 1% no valor do Colesterol Total diminui a prevalência de DCI em aproximadamente 2%.

As concentrações do Colesterol Total e do Colesterol HDL dependem de metabolismos distintos e não se deve fazer qualquer tentativa de buscar correlação entre seus níveis de concentração.

Como calcular a concentração do colesterol VLDL e LDL

. As concentrações do Colesterol VLDL e LDL podem ser calculadas utilizando a equação de Friedewald, que é exata para amostras cujas concentrações de triglicérides não ultrapassem 400 mg/dL e não pertençam a pacientes portadores de lipoproteinemia do Tipo III.

Equação de Friedewald

Colesterol VLDL = Triglicérides / 5

Colesterol LDL = Colesterol Total - (HDL + VLDL)

Observações

1. A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

2. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água deionizada ou destilada utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágue final da vidraria, deve ter resistividade ≥ 1 megaohm.cm ou condutividade ≤ 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

3. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar www.fxol.org/

Referências

- III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol 2001;77 (suppl III):1-48.
- Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
- Virella MFL, Stone P, Ellis S, Colwell G. Clin Chem 1977; 23:882-884.
- Warnick RG, Naguyent T, Albers AA. Clin Chem 1985; 2:217-222.
- Warnick RJ. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AAC Press, 1997.
- Warnick RG, Wood PD. Clin Chem 1995; 41: 1427-33.
- NCEP - Detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). NIH Publication 02-5215, Bethesda, MD, 2002.
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Growth T. 1981;27:493-501.
- Leite PF, Martinez TLR, Halpern A, Cendoroglo MS, Novazzi JP, Fonseca FAH, dias JCA. Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Loyola, 1994. p.56.
- Executive Summary of the Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486-97.
- Labtest. Dados de Arquivo.
- Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico, 2016.

13. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al; European Atherosclerosis Society (EAS) and the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) joint consensus initiative. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points—a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Eur. Heart J. 2016;37(25):1944-58.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo
Colesterol HDL	13-25	 1 X 25 mL
		 1 X 5 mL
	13-50	 1 X 50 mL
		 1 X 5 mL

Estão disponíveis aplicações **para sistemas automáticos**.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000
Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Revisão: Março, 2014
Ref.: 050118

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control
	Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control
	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control
	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Periodo após abertura Periodo post-abertura Period after-opening		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before		

Ref.: 140214 |