COLESTEROL Liquiform
Instrucciones de Uso

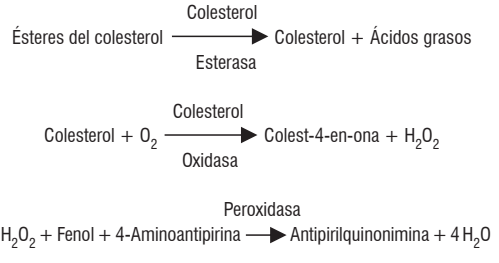
Ref.: **76**

Finalidad . Sistema enzimático para la determinación del colesterol total en muestras de suero por reacción de punto final.

Uso profesional.

[Solo para uso diagnóstico *in vitro*.]

Principio . El colesterol total es determinado de conformidad a las reacciones expuestas a continuación:



Los ésteres de colesterol son hidrolizados por la colesterol esterasa a colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre es oxidado por la colesterol oxidasa a colest-4-en-ona y peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa y peróxido de hidrógeno, el fenol y la 4-aminoantipirina son oxidados formando la antipirilquinonimina, que tiene absortividad máxima en 500 nm.

La intensidad del color rojo formado en la reacción final es directamente proporcional a la concentración del colesterol en la muestra.

Características del Sistema . Valores elevados del colesterol, principalmente el colesterol ligado a las lipoproteínas de baja densidad, suponen uno de los más importantes factores de riesgo para el desenvolvimiento de la enfermedad arterial coronariana. El National Cholesterol Education Program (NCEP)[6] recomienda que los sistemas de medición del colesterol presenten características de desempeño capaces de alcanzar los requisitos de exactitud y precisión necesarios para que los resultados tengan utilidad médica.

Los datos de exactitud, repetitividad y reproducibilidad obtenidos con el sistema Colesterol Liquiform demuestran que el método es capaz de ofrecer resultados que sobrepasan las exigencias del NCEP, haciendo con que se pueda considerar bastante seguro para la medición confiable del colesterol total en los niveles de decisión más importantes. Se puede añadir que la comparación entre las imprecisiones encontradas en la repetitividad y en la reproducibilidad demuestra que el sistema de medición es bastante robusto en las regiones de concentraciones significativas para uso clínico, indicando un desempeño estable en el día a día.

El sistema es compuesto de un único reactivo listo para uso, con estabilidad que garantiza desempeño consistente en su forma líquida original y mantiene las condiciones óptimas de la reacción.

Colesterol Liquiform posee un sistema clarificador de alta eficiencia que elimina las interferencias positivas producidas por valores de triglicéridos hasta 2600 mg/dL.

El sistema es fácilmente aplicable en analizadores automáticos y semiautomáticos capaces de medir una reacción de punto final en 500 nm y puede ser usado para medición del colesterol HDL después de precipitación selectiva de las LDL y VLDL.

Metodología . Enzimático-Trinder.

Reactivos

1. R1 - Reactivo 1 - Almacenar entre 2 - 8 ºC.
Contiene tampón ≤ 100 mmol / L, pH 7,0, fenol ≤ 24 mmol/L, colato de sodio 0,005 - 0,05%, azida sódica 14,6 mmol/L, 4- aminoantipirina 300 - 500μmol/L, colesterol esterasa 250 - 1000 U/L, colesterol oxidasa 250 - 1000 U/L y peroxidasa 250 - 1000 U/L, cofactor, estabilizantes y tensioactivos.

Para preservar el desempeño, el reactivo debe permanecer fuera del frigorífico solamente el tiempo necesario para obtenerse el volumen a ser utilizado. Evitar exposición a la luz solar directa.

2. CAL - Estándar - 200 mg/dL - Almacenar entre 2 - 30 ºC.
Contiene 200 mg/dL de colesterol, estabilizador, tensioactivo y conservante. Después del manejo se sugiere almacenar bien tapado para evitar evaporación.

Los reactivos no abiertos, conservados en las condiciones especificadas, son estables hasta la fecha de expiración impresa en su rótulo. Durante la manipulación, los reactivos están sujetos a contaminaciones de naturaleza química y microbiana que pueden provocar disminución de la estabilidad.

Precauciones y cuidados especiales

No utilizar el Reactivo 1 cuando su absorbancia, medida contra el agua en 500 nm, sea igual o mayor que 0,300 o cuando se muestre turbio o con señales de contaminación.

Se deben aplicar cuidados habituales de seguridad en el manejo del reactivo. El Reactivo 1 y el Estándar contiene azida sódica, que es tóxica. Se debe tomar cuidado para evitar la ingestión y en caso de contacto con los ojos lavar inmediatamente con gran cantidad de agua y procurar auxilio médico. La azida puede formar compuestos altamente explosivos con tuberías de plomo y cobre. Así siendo, se deben utilizar grandes volúmenes de agua para deshacerse del reactivo.

Labtest

Material necesario y no suministrado

1. Baño maría mantenido a temperatura constante (37 ºC).

2. Fotómetro capaz de medir, con exactitud, la absorbancia entre 490 y 510 nm.

3. Pipetas para medir muestras y reactivo.

4. Cronómetro.

Influencias Preanalíticas . La postura durante la recogida de la muestra debe ser estandarizada porque puede tener efectos significativos en los resultados.

Si las muestras son obtenidas en con el paciente en posición sentada, se debe estandarizar para que el individuo esté sentado durante 15 minutos y no más que 30 minutos.

Un agarrotamiento mayor que 1 minuto produce hemoconcentración, que puede aumentar los valores del colesterol en 5,0 % después de 2 minutos y en 10,0 al 15,0 % después de 5 minutos. Así siendo, es muy importante obtener la muestra de sangre después de retirar el torniquete debiéndose estandarizar todo el procedimiento de la recogida.

La Variación Biológica del colesterol, a consecuencia de la variación también biológica de las lipoproteínas transportadoras del colesterol, es observada cuando la dosificación del colesterol es repetida en un mismo laboratorio en el espacio mínimo de una semana. Eso ocurre independientemente del error analítico y puede variar entre el 1,7 y 11,6 % con un promedio del 6,1 %, debido principalmente a la Variación Biológica de la LDL, que es la principal lipoproteína transportadora de colesterol.

Niveles elevados de ascorbato (vitamina C) producen interferencias negativas por competición con el cromógeno en la reacción de la peroxidasa. Si se sospecha de la presencia de ácido ascórbico, dejar el suero en reposo durante 90 minutos antes de comenzar la dosificación, de modo a minimizar la acción del interferente.

Muestra

Se debe crear una instrucción de trabajo que establezca procedimientos adecuados para recogida, preparación y almacenamiento de la muestra. Subrayamos que los errores debidos a la muestra pueden ser mucho más grandes que los errores acaecidos durante el procedimiento analítico.

De manera general, la muestra de sangre puede ser obtenida con o sin ayunas, pero es altamente recomendable que todos los ensayos de los lípidos sanguíneos, incluyendo el colesterol, sean realizados en muestras recogidas en ayunas. Las ventajas de la utilización de muestras recogidas en ayunas devienen de la estandarización de la recogida, ya que permite la realización de la determinación de otros lípidos que requieren ayunas y minimizan la interferencia de la lipemia postprandial, que está frecuentemente presente en muestras obtenidas sin ayunas.

Usar suero. Anticoagulantes como citrato, oxalato o EDTA producen resultados falsamente disminuidos. El analito es estable 7 días entre 2 - 8 ºC y 6 meses a 20 ºC negativos[6]. Homogeneizar bien las muestras lipémicas antes de comenzar la dosificación. No utilizar muestras fuertemente hemolisadas.

Como el volumen de muestra es pequeño, se debe pipetear con cuidado para minimizar la imprecisión del sistema de medición.

Como ningún test conocido puede asegurar que muestras de sangre no transmiten infecciones, todas se deben considerar como potencialmente infectantes. Así siendo, al manejarlas, se debe seguir las normativas establecidas para bioseguridad.

Para deshacerse de los reactivos y el material biológico sugerimos aplicar las normativas locales, regionales o nacionales de protección ambiental.

Interferencias

Valores de bilirrubina de hasta 5 mg/dL, hemoglobina hasta 180 mg/dL y triglicéridos hasta 2600 mg/dL no producen interferencias significativas. Valores de bilirrubina de entre 5 y 38 mg/dL producen resultados falsamente disminuidos proporcionales a la concentración de la bilirrubina.

Para evaluar la concentración aproximada de la hemoglobina en una muestra hemolisada se puede proceder como expuesto a continuación: Diluir 0,05 mL de la muestra en 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85 %) y medir la absorbancia en 405 o 415 nm, ajustando el cero con agua desionizada o destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbancia}_{405} \times 601$$
$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbancia}_{415} \times 467$$

Procedimiento

Ver observaciones 1, 2 y 3

Tomar 3 tubos de ensayo y proceder como expuesto a continuación:

	Blanco	Prueba	Estándar
Muestra	------	0,01 mL	------
Estándar (Nº 2)	------	------	0,01 mL
Reactivo 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Mezclar y incubar en baño maría a 37 ºC por 10 minutos. El nivel de agua en el baño debe ser superior al nivel de reactivos en los tubos de ensayo. Determinar las absorbancias de la prueba y estándar en 500 nm o filtro verde (490 a 510), ajustando el cero con el blanco. El color es estable por 60 minutos.

El procedimiento sugerido para la medición es adecuado para fotómetros cuyo volumen mínimo de solución para lectura es igual o menor que 1,0 mL. Se debe hacer una verificación de la necesidad de ajuste del volumen para el fotómetro utilizado.

Los volúmenes de muestra y reactivo pueden ser modificados proporcionalmente sin perjuicio para el desempeño de la prueba y el procedimiento de cálculo se mantiene inalterado. En caso de reducción de los volúmenes, es fundamental que se observe el volumen mínimo necesario para la lectura fotométrica. Volúmenes de la muestra menores que 0,01 mL son críticos en aplicaciones manuales y deben ser usados con cautela porque aumentan la imprecisión de la medición.

Cálculos

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbancia del Prueba}}{\text{Absorbancia del Estándar}} \times 200$$

Ejemplo

Absorbancia del Prueba = 0,290
Absorbancia del Estándar = 0,345

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{0,290}{0,345} \times 200 = 168$$

Debido a la gran reproducibilidad que puede ser obtenida con la metodología, se puede utilizar el método del Factor de Calibración.

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{200}{\text{Absorbancia del Estándar}}$$

Colesterol (mg/dL) = Absorbancia del Prueba x Factor de Calibración

Ejemplo

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{200}{0,345} = 580$$

Colesterol (mg/dL) = 0,290 x 580 = 168

Calibración

Trazabilidad del Sistema
El Estándar es trazable al *Standard Reference Material* (SRM) 911 del *National Institute of Standards and Technology* (NIST).

Calibraciones Manuales
Utilizar el estándar del kit Ref. 76.2 u obtenga el factor de calibración al utilizar un nuevo lote de reactivos, cuando lo indique el control de calidad interno.

Sistemas Automáticos
Blanco de reactivos: agua desionizada o destilada, o solución del NaCl 150 mmol/L (0,85 %);
Estándar: usar calibrador proteico. La concentración del Colesterol en los calibradores de la línea Calibra Labtest es trazableal SRM 917 del NIST.

Intervalo de las Calibraciones
Se recomienda la calibración cuando haya cambio de lote o cuando lo indica el control de calidad interno.

Linealidad

El resultado de la medición es lineal hasta 500 mg/dL. Cuando se obtenga un valor igual o mayor que 500 mg/dL, diluir la muestra con NaCl 150 mmol/L (0,85 %), realizar nueva medición y multiplicar el resultado por el factor de dilución. Diluir la muestra de tal modo que el valor encontrado se sitúe entre 150 y 300 mg/dL. Sugerimos la verificación de la linealidad metodológica y fotométrica al menos cada seis meses, utilizando muestras con valores de hasta 500 mg/dL.

Control interno de la calidad . El laboratorio debe mantener un programa de control interno de calidad que defina con claridad las normas aplicables, objetivos, procedimientos, criterios para especificaciones de calidad y límites de tolerancia, acciones correctivas y registro de actividades. Deben ser utilizados materiales de control para monitorear la imprecisión de la medición y los desvíos de la calibración.

Se sugiere buscar atender como límites máximos de control las especificaciones propuestas por National Cholesterol Education Program (NCEP)[10] para el coeficiente de variación ≤3,00 %, error sistemático (bias) ≤±3,00 % y error total ≤9,0 %.

Se sugiere utilizar los productos de la línea Qualitrol - Labtest para el control interno de la calidad em ensayos de química clínica.

Valores recomendáveis ou desejados . Ellos sustituyen los valores de referencia y son determinados a partir de datos epidemiológicos calculados estadísticamente, que relacionan los niveles de colesterol con el predominio de la Enfermedad Coronaria Isquémica (ECI).

Clasificación ATP III de LDL, Colesterol Total y HDL (mg/dL):

Adultos[10]

Colesterol Total (mg/dL)

Deseable	<200
Limiar elevado	200 - 239
Elevado	≥240

Colesterol HDL (mg/dL)

Bajo	<40
Elevado (Deseable)	≥60

Colesterol LDL (mg/dL)

Óptimo	<100
Limiar óptimo	100 - 129
Limiar elevado	130 - 159
Elevado	160 - 189
Mucho Elevado	≥190

Niños y Adolescentes[9]

Colesterol Total (mg/dL)

2 a 19 años	Deseable	<170
	Limítrofe	170 - 199
	Elevado	200

Colesterol HDL (mg/dL)

<10 años	Deseable	40
10 a 19 años	Deseable	35

Colesterol LDL (mg/dL)

2 a 19 años	Deseable	<110
	Limítrofe	110 - 129
	Elevado	130

Conversión: Unidades Convencionales (mg/dL) x 0,026 = Unidades SI (mmol/L).

Características del desempeño[11]

Exactitud . El método propuesto se comparó con un método similar utilizando 20 muestras con valores entre 112 y 357 mg/dL. La comparación resultó en la ecuación de regresión: y = 11.93 + 0.984xy un coeficiente de correlación (r) igual a 0.996. El error sistemático total (constante y proporcional) verificado a la concentración de 250 mg/dL fue igual a 3,17%. Dado que las muestras fueron seleccionadas de forma aleatoria en forma ambulatoria, se puede inferir que el método tiene una especificidad metodológica adecuada.

Repetitividad - Imprecisión intra-ensayo

	N	Promedio	DP	CV (%)
Muestra 1	20	71	1,01	1,4
Muestra 2	20	115	2,69	2,3

Reprodutibilidad - Imprecisión total

	N	Promedio	DP	CV (%)
Muestra 1	20	71	1,87	2,6
Muestra 2	20	115	3,03	2,6

Sensibilidad metodológica . Se utilizó una muestra de proteína que no contenía colesterol para calcular el límite de detección del ensayo y se encontró un valor de 1,80 mg/dL, equivalente al promedio de 10 ensayos más tres desviaciones estándar.

Efectos de la dilución de la matriz . Dos muestras con valores iguales a 330 y 400 mg/dL fueron utilizadas para evaluar la respuesta del sistema en las diluciones de la matriz con NaCl 150 mmol/L (0,85 %). Usando factores de dilución que variaron de 2 a 8 se encontraron recuperaciones entre el 99 y 113 %.

Significación Clínica . El gran dilema de la ateroesclerosis es que es un proceso silencioso. Está activo en todos los individuos y se mantiene sin ninguna manifestación durante décadas y de repente se manifiesta como dolor torácica, infarto agudo de miocardio o muerte súbita. Estudios poblacionales longitudinales tales como Tecumset, Albany, Framingham, Evans, Chicago, Oslo entre otros, así como los estudios epidemiológicos y experimentales en animales han demostrado una correlación positiva entre los niveles de colesterol, específicamente el colesterol LDL y el riesgo de la enfermedad arterial coronaria (EAC). Al mismo tiempo se demostró que los niveles de colesterol HDL están inversamente relacionados con riesgo de EAC.

Los niveles elevados de colesterol se encuentran en nefrosis, hipotiroidismo, enfermedades de las vías biliares del hígado y los hiperlipoproteinemias de los tipos IIa, IIb y III.

Disminución en los niveles se encuentran en el hipertiroidismo, enfermedades consuntivas y la malnutrición crónica.

En el nivel de colesterol sérico, la hipertensión y el tabaquismo son factores de riesgo para la aterosclerosis y EAC.

Observaciones

1. La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

2. El agua utilizada en el laboratorio debe tener la calidad adecuada a cada aplicación. Por lo cual, para preparar reactivos y usarla en las mediciones, debe tener resistividad ≥1 megaohm.cm o conductividad ≤1 microsiemens/cm y concentración de silicatos <0,1 mg/L (agua tipo II). Para el enjuague de la vidriería, el agua puede ser del tipo III, con resistividad ≥0,1 megaohms o conductividad ≤10 microsiemens. En el enjuague final utilizar agua tipo II. Cuando la columna desionizadora está con su capacidad saturada, se produce agua alcalina con liberación de varios iones, silicatos y sustancias con gran poder de oxidación o reducción que deterioran los reactivos en pocos días o incluso horas, alterando los resultados de modo imprevisible. Así siendo, es fundamental establecer un programa de control de la calidad del agua.

3. Para una revisión de las fuentes fisiopatológicas y medicamentosas de interferencia en los resultados y en la metodología, se sugiere consultar Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 3rd ed, Washington: AACC Press, 1990.

Referencias

1. Alain CA, Poon LS, Cahn CSG, Richmond W, Fu PC. Clin Chem 1974;20:470.

2. Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed, Verlag Chemie:Weinhein, 1984;8:141-8.

3. Bull Org Mond Santé. 1970;43:891.

4. Fredrickson DS, Levy RJ, Lee RS. New Engl J Med 1967; 276:24, 94, 148, 215, 276.

5. Good NE, Winger GD, Winter W, Connoly TN, Izawa S, Singh RMM. Biochemistry 1966;5:467.

6. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH. Handbook of lipoprotein testing. AACC Press: Washington, 1997:75-97.

7. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostics Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.

8. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.

9. 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.

10. 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.

11. Labtest: Datos de Archivo.

12. 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.

Presentación

Producto	Referencia	Contenido	
Colesterol Liquiform	76-2/100	R 1	2 X 100 mL
		CAL	1 X 5 mL
	76-2/250	R 1	2 X 250 mL
		CAL	1 X 5 mL
Colesterol Liquiform Labmax 560/400	76-4/70	R 1	4 X 70 mL
		CAL	1 X 5 mL

Para obtener información sobre otras presentaciones comerciales, visite www.labtest.com.br o comuníquese con el Servicio al Cliente (Customer Service).

El número de pruebas para sistemas automáticos depende de los parámetros programados.

Consulte disponibilidad de aplicaciones con el Servicio al Cliente (Customer Service).

Informaciones al consumidor

[Términos y Condiciones de Garantía]

Labtest Diagnóstica garantiza el desempeño de este producto dentro de las especificaciones hasta la fecha de expiración indicada en los rótulos, siempre que los cuidados de utilización y almacenamiento indicados en los rótulos y en estas instrucciones sean seguidos correctamente.

Labtest Diagnóstica S.A.
CNPJ: 16.516.296/0001-38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152
Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - **www.labtest.com.br**
Servicio de Apoyo al Consumidor | e-mail: customerservice@labtest.com.br

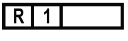
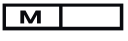
Edición: Marzo, 2000
Revisión: Septiembre, 2022
Ref.: 030223(02)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reproducción bajo previa autorización

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)		**Corrosivo** Corrosivo Corrosive
	**Limite de temperatura (conservar a)** Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		**Tóxico** Tóxico Poison
	**Representante Autorizado na Comunidade Europeia** Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		**Marca CE** Marcado CE CE Mark
	**Instalar até** Instalar hasta Install before		**Fabricado em** Elaborado en Manufactured on
	**Produto de uso único** Producto de un solo uso Single use product		**Fabricado por** Elaborado por Manufactured by
	**Consultar instruções de uso** Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		**Período após abertura** Período post-abertura Period after-opening
	**Tóxico para os organismos aquáticos** Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		**Uso veterinário** Uso veterinario Veterinary use
	**Gases/líquidos comburentes** Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		**Reagente** Reactivo Reagent
	**Atenção** Atención Attention		**Número do lote** Denominación de lote Batch code
	**Material Calibrador/Padrão** Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		**Número do catálogo** Número de catálogo Catalog Number
	**Produto diagnóstico in vitro** Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		**Controle** Control Control
	**Liofilizado** Liofilizado Lyophilized		**Controle negativo** Control negativo Negative control
	**Reagente** Reactivo Reagent		**Controle positivo** Control positivo Positive control
	**Reagente contendo micropartículas** Reactivo con microparticulas Reagent with microparticles		

Ref.: 190523

Labtest