



QUIMICOL -H- HDL Colesterol ULTRA-SENSÍVEL

Finalidade:

Reação inibitória espectrofotométrica para determinação quantitativa de HDL colesterol em amostras de soro humano. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

O princípio do teste é baseado na aceleração da reação do colesterol oxidase e na quebra seletiva do HDL através de um detergente específico. Na primeira reação, o colesterol livre das moléculas, não - HDL (colesterol total, LDL e VLDL), é solubilizado e consumido pelo colesterol oxidase (CO) em uma reação colorimétrica.

No segundo reagente, um detergente específico solubiliza o HDL, permitindo a reação com um acoplador cromógeno, desenvolvendo cor para a determinação quantitativa de HDL -C.

Metodologia:

Direto / Ultra-sensível

Significado Clínico:

O papel das partículas HDL no metabolismo lipídico é do transporte do colesterol do tecido periférico ao fígado, ou seja, as partículas esféricas de HDL são captadas pelo fígado por endocitose mediada por receptor, e os ésteres de colesterol são degradados. O colesterol assim liberado pode ser reembalado pela lipoproteínas, convertido em ácidos biliares ou secretado na bile para remoção do corpo. Este processo é conhecido como transporte reverso do colesterol e tem sido apresentado como um mecanismo cardíaco protetor. Baixos níveis do HDL-Colesterol têm repetidamente sido associados com um aumento do risco de doenças do coração e doença da artéria coronária. Então, a determinação do HDL colesterol sérico tem sido reconhecida como uma ferramenta útil na identificação de pacientes de altos riscos. O Painel de Tratamento de Adulto do Programa Nacional de Educação do Colesterol (NCEP) recomenda que todos os adultos de 20 anos de idade e acima deveriam ter níveis de colesterol total e HDL colesterol medidos, no mínimo a cada 5 anos para procurar risco de doença coronária.

Reagentes:

Reagente 1: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8°C e mantê-lo ao abrigo da luz.

Contém Buffer (pH6.5) 10 mmol/L, TODB 1mmol/L, Ascorbato oxidase 3.0 U/ml, PVS 2 mg/L, PEGME 0.2%, MgCl₂ 2mmol/L

Reagente 2: Pronto para uso. Conservar entre 2 - 8°C e mantê-lo ao abrigo da luz.

Contém Buffer (pH6.5) 10 mmol/L, Colesterol Esterase 4 U/ml, Colesterol Oxidase 10 U/ml, Peroxidase 30 U/ml, 4 aminoantipirina 2.5 mmol/L, Detergente 0.5%

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de 30 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Calibrador: Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: soro humano liofilizado com lipoproteínas de diversas classes incluindo lipoproteína de alta densidade (HDL).

- Verificar a concentração no rótulo do frasco.

MODO de PREPARO do CALIBRADOR

1. Golpear o frasco levemente com os dedos para desprender o material liofilizado.

2. Utilizando uma pipeta volumétrica calibrada, adicionar exatamente 1,0 mL de água destilada no frasco.

3. Recolocar a tampa no frasco e deixar em repouso na temperatura ambiente por 30min.

4. Antes de utilizar, inverta suavemente o frasco de 5 a 10 vezes até o liofilizado dissolver totalmente.

Após reconstituição, o calibrador possui estabilidade de 07 (sete) dias se armazenado entre 2 - 8°C.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para uso de diagnóstico "in vitro".

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

Reagentes com diferentes lotes não devem ser utilizados em conjunto.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se o reagente apresentar turbidez e, se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

- Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância entre 600 - 700nm.
- Pipetas para medição de amostras e reagente.

- Água destilada/deionizada.
- Consumíveis do analisador quando usado.
- Soro controle
- Medidor de tempo.

Amostra:

Soro livre de hemólise. O HDL colesterol no soro é estável por 6 dias se mantido entre 2 - 8°C ou 1 ano a -70°C.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 8 horas. Todavia, poderá ser alterado segundo orientação médica.

Interferências:

Bilirrubina até 20 mg/dL, Hemoglobina até 500 mg/dL, Ácido Ascórbico até 50 mg/dL e Lipemia até 500 mg/dL medida como triglicérides, não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do HDL colesterol, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 600 - 700nm.

Tipo de Reação: Ponto final

Direção: Crescente

Vol. Amostra: 10µL

Vol. Reagente 1: 0,75 mL

Tempo de Incubação: 5 minutos

Vol. Reagente 2 : 0,25 mL

Tempo de incubação : 5 minutos

Calibração:

Utilizar calibrador incluso no kit, o valor do calibrador tem sido determinado por procedimentos adotados pelo Centro de Controle de Doenças (CDC), método de referência para HDL Colesterol, a rastreabilidade só pode ser garantida se forem utilizados reagentes da EBRAM e procedimentos de medição recomendados.

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 4 (2º incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Amostra/S.C.	Calibrador
Água destilada	10µL	-	-
Calibrador	-	10µL	-
Amostra/S.C.	-	-	10µL
Reagente R1	0,75mL	0,75mL	0,75mL

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 5 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

3. Adicionar o R2.

Reagente R2	0,25mL	0,25mL	0,25mL
-------------	--------	--------	--------

4. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 5 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

5. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 600 nm (600 - 700nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

(Abs. = Absorbância)

(Conc. = Concentração)

HDL Colesterol da Amostra (mg/dL)	Abs. amostra ----- x	Conc. Calibrador (mg/dL)
	Abs. calibrador	

Exemplo:

Abs. da amostra = 0,020

Abs. do calibrador = 0,025

Conc. do calibrador = 58 mg/dL

$$\text{HDL Colesterol Amostra} = \frac{0,020}{0,025} \times 58$$

HDL Colesterol Amostra = 46,4 mg/dL

Obs: mg/dL x 0.02586 = mmol/L

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 100 mg/dL.

Amostras com valores superiores a 100 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre de 1,06 a 100 mg/dL e

os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados:

Homens: 30 - 70 mg/dL

Mulheres: 30 - 85 mg/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo.

A V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, sugere que laudos laboratoriais referentes aos perfis lipídicos tenham uniformidade em todo território nacional, no tocante aos valores de referência e ao alerta indicativo para o diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar (HF). De acordo com a Diretriz, para adultos acima de 20 anos valores de HDL menores a 40 mg/dL são considerados baixos e significativamente importantes na avaliação de doença coronariana, independentemente dos fatores de risco, e valores maiores a 60 mg/dL são considerados desejáveis para oferecer alguma proteção contra esta doença.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziu os seguintes resultados estatísticos:

Número de Amostras:	30
Intervalo dos resultados	110,3 – 130,8 mg/dL
Coefficiente de Correlação:	0,998
Inclinação:	1,0
Intercepta:	0,65 (mg/dL)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	20,8	99,7
D.P. (mg/dL)	0,9	1,00
C.V. (%)	3,6	1,02

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	23,6	99,5
D.P. (mg/dL)	1,0	2,8
C.V. (%)	4,2	3,1

Sensibilidade Metodológica:

1.06 mg/dL

Especificidade:

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

Observações:

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade US1 mega ohm ou condutividade £ 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxague da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade US 0,1 megaohms ou condutividade UR 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica: R1=6x10mL + R2=2x10mL + Calib=1x1,0mL

Linha Bulk: R1=1x210mL + R2=1x70mL + Calib=1x1,0mL

Linha Quimisat 450: R1=3x45mL + R2=1x45mL + Calib=1x1,0mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

Referência Bibliográfica:

- Castell, W.P. et al. Cholesterol and Other Lipids in Coronary Heart Disease Circulation 55:757
- Stein, E.A. Myers, G.L. Lipids, Lipoproteins and Apolipoproteins in Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition, Burtis, C. Ashwood, A. (Eds.) CV Mosby Co. 23:1002-83 (1994).
- Warmick, R. Nguyen, T. Albens, A.A. Comparison of Improved Precipitation Methods for Quantification of High Density Lipoprotein Cholesterol - Clin. Chem. 1985: 31:217-22.
- Warmick, R. Wood, P. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High Density Lipoprotein Cholesterol, Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, N° 10, 1996.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4 N° 8, June 1984
- Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, Third Edition, AACC Press (1990)
- National Institute of Health Publication N° 01-3670, May 2001.
- Arquivos da EBRAM.



APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

GENERAL	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S-SR1
Calibration Mode:	Calibration (Single AVG)
Reagent Blank:	Reagent/Dil
Cleaner:	Before
Wavelength:	600 nm
Decimal Position:	0
Unit:	mg/dL
ANALYSIS	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor: 2.0	Conc. Factor: No
Sample:	Circle: 1
Volume:	Dil: 10 ul
Reagent:	Circle: 1
Volume:	200 ul
Start Reagent 1:	Circle: 12
Volume:	Dil: 5.0 ul
Start Reagent 2:	Circle:
Volume:	Dil:
CALCULATION	
Sample Limit:	NO
Point:	
Reaction Direction:	Increase
Check:	On
Conversion Factor:	1.0000
Offset:	0.0000
Test Range Low:	1.06
High:	100
Norm Range Low:	30
High:	85
Number of Slats:	1
Calculation Step A:	Endpoint
Readings First:	11
Last:	24
Reaction Limit:	
Point:	
Calib. Interval:	On Request
CALIBRATION	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low: NO	Blank Range Low: NO
High: NO	High: NO
Factor:	
Calibrator Pos:	*
STD1:	**
STD2:	
STD3:	
STD4:	
STD5:	
STD6:	
STD7:	
STD8:	
Calc. Model:	
Correction STD:	
Replicate:	Duplicate
Deviation:	5%
CONTROL	
CS1 - Pos (?) Assay (***) Low (***) High (***)	
CS2 - Pos (?) Assay (***) Low (***) High (***)	
CS3 - Pos (?) Assay (***) Low (***) High (***)	
(*) colocar a posição correspondente da rack CAUCS	
(**) colocar o valor correspondente do calibrador	
(***) colocar o valor correspondente do soro controle	

APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: HDL Colestamol	Test: HDL		
Test Bar Code:			
Test Type: endpoint	Curve Type: Blank Linear		
Units: mg/dl	Nº of Decimal Places: 0		
Primary Wavelength: 600	Secondary Wavelength: none		
Read Time Interval: 20	Sample Blank: Yes		
Factor:			
Calibration Interval: (*)			
Normalization Interval:			
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2		
Low Blank A Limit: -0.010	High Blank A Limit: 0.350		
Low A Limit: -0.050	High A Limit: 2.000		
Low Normal: 30	High Normal: 85		
Linearity Limit: 100	Curve S.D. Limit: 5.000		
Test Name: HDL Colestamol	Test: HDL		
Test Bar Code:			
Sample Volume: 3 ul	Sample Diluent:		
Reagent Dilution Ratio: 1	Predilution Ratio: 1		
Reagent Dilution:			
Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 1	250	YH1A	290 sec
Reagent 2	60	YH2A	290 sec
Reagent 3			
Reagent 4			
Controls:			
(*) Introduzido pelo operador (1 - 999)			

APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	HDL Colestamol
Abbr. Name:	HDL COL
Mode:	Endpoint
Wavelength:	546 nm
Units:	mg/dL
Decimals:	0
Low Conc:	1.06
High Conc:	100
Calibrator Name:	*
Repeat:	2
Number:	1
Concentration:	**
Interval:	*
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	30
Ref Male High:	70
Ref Female Low:	30
Ref Female High:	85
Ref Pad Low:	*
Ref Pad High:	*
Control 1:	*
Control 2:	*
Control 3:	*
Correlat Factor:	1.000
Correlat Offset:	0.000
DUAL MODE	
Name:	HDL Colestamol
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	
Normal Volume:	300 ul
Reagent Volume:	301 ul
SAMPLE	
Normal Volume:	3 ul
Reagent Volume:	2 ul
R2 Bottle:	
Normal Volume:	100 ul
Reagent Volume:	100 ul
Predilution:	NO
Slope Blank:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Point One, Two:	
Incubation Time:	6.5 min
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	-0.100
R ABS H Limit:	3.000
Substr. Depletion:	
Reagent Blank:	
R ABS Deviation:	YES #
Cal Low Limit:	*
Cal High Limit:	*
Factor:	
MONO MODE	
Name:	
Sample Blank:	
R1 Bottle:	
Normal Volume:	
Reagent Volume:	
SAMPLE	
Normal Volume:	
Reagent Volume:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	
Incubation Time:	
Point One, Two:	
Low Absorbance:	
High Absorbance:	
R ABS L Limit:	
R ABS H Limit:	
Substr. Depletion:	
Reagent Blank:	
R ABS Deviation:	
Reagent Blank:	
Cal Low Limit:	
Cal High Limit:	
Factor:	#
(*) Dados colocados pelo usuário	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador	
(***)	
(#) Dados calculados pelo analisador	

APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	HDL Colestamol
Point Final:	mg/dL
Units:	macroemulsa
Mode:	macroemulsa
Filter:	578
Tempo Estab:	3
Factor:	
Tempo de Incubação:	
Tempo de Interação:	
Nº de Interações:	
Temperatura:	37°C
Volume Amostrado:	400
Temp. Reação:	ambiente
Estabilidade:	**

APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Point Final
Leitura:	macroemulsa
Filter:	578
Temperatura:	37°C
Volume Amostrado:	400
Unidade:	mg/dL
Limite Lin:	100
Inclinação:	
Cálculo:	endpo
Padão:	**
Factor:	
Delay Inicial:	
Quant. Intervalo:	
Tempo Intervalo:	
Tempo Estab:	4.000

APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	Point Final
WL1:	578
Blank:	sim
Bk Amoa Pad:	Não / Não
Tempo:	37°C
Vol Amostr:	400
Rei:	3
Pad:	
Padão:	**
Pad1:	
Unit:	mg/dL
Dec:	0
Int. Cn:	
Int. In:	
dAMIN:	
%Lim. Lin:	
Dir:	
Lim. Lin - Min/Max:	0.000 / 0.100
Abs. Real - Min/Max:	0.0 / 1.0
Abs. Pad - Min/Max:	0.0 / 1.0
Vol/Vn - Min/Max:	0.030 / 0.070

APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	HDL - Chol
Immunoassay:	NO
Chemistry Type:	Endpoint
BioType:	
Innova Chemistry:	NO
% Sample Volume:	6 (3.0 ul)
Wavelength:	560
Biochromatic Chemistry:	NO
Biochromatic Factor:	
K1:	
K2:	
Bio Limit 1:	
Bio Limit 2:	
Resolution Limit:	
Delay Time:	5.00
Blank Type:	NO Blank
Incubation:	
% Reagent Volume:	50 (250 ul)
2nd Reagent:	YES
2nd Reagent Volume:	18 (90 ul)
A2 Delay:	3.00
Units:	mg/dL
Unit Factor:	1.000
Decimal Point:	0
RBL Low:	0
RBL High:	0.50
Range Low:	1.06
Range High:	100
Calibration Factor:	(*)
Reagent Rate:	
Standard Value:	(**)
Normal Low:	30
Normal High:	85
Slope:	1.0000
Intercept:	0.0000
C1*10E-6:	
C2*10E-6:	
D1*10E-6:	
Delta R:	
Linear Factor:	
Final Limit:	
Endpoint Limit:	0.5000
(*) Colocar 1 como valor inicial. O valor do CAL FACT é determinado pelo ensaio de calibração	
(**) Colocar o valor correspondente do calibrador	

APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit:	mg/dL	Decimals:	0	Reaction Type:	Endpoint
Volume (ul):	Serum: 3	Plasma:		Units:	
Abs Range (m Abs):	Min: 0	Max: 2.000		Reagent 2: 100	
Linearity Limit:	100	Reagent Blank:	Yes		
Contaminating:	Yes	Differential:	No		
Filter 1:	546	Filter 2:	none		
Time (sec):	Mix 1: 2.00	Incubation 1: 300	Lag Phase: 2		
	Mix 2: 2.00	Incubation 2: 180	Measure: 1		
Measurement Type:	Standard	Factor:	0.00		
Normal Range					
Age (yrs)		Homens		Mulheres	
Below 10:	Min.	Max.	Min.	Max.	
From 10 to 80:	30	70	30	85	
Over:					

Disponemos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.

Ebram Prods.Laboratoriais Ltda®.

Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho

São Paulo - SP - Cep: 03059-001

Tel.: (11) 2291-2811

Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

www.ebram.com

sac@ebram.com

SAC.: (11) 2291-2811

Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen

CRF-SP - 37.451

Nº do Reg. MS: 10159820192

Edição: Setembro/2019