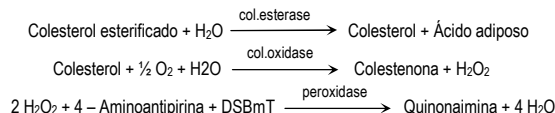


COD 11557 1 x 80 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Regentes para medir a concentração de colesterol HDL Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos



**FUNDAMENTO DO MÉTODO**

O colesterol das proteínas de baixa densidade (LDL), as de muito baixa densidade (VLDL) e os quilomicrones é hidrolizado pela colesteroloxidase mediante uma reação enzimática acelerada não formadora de cor. O detergente presente no reagente B solubiliza o colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL) da amostra. O colesterol de HDL é quantificado espectrofotometricamente através das reações acopladas descritas a seguir<sup>1</sup>.



**CONTEÚDO E COMPOSIÇÃO**

- A. Reagente. 1 x 60 mL. Buffer Good, colesterol oxidase < 1 U/mL, peroxidase < 1 U/mL, N,N-bis(4-sulfobutil)-m-toluidina (DSBmT) 1 mmol/L, acelerador 1 mmol/L.
- B. Reagente. 1 x 20 mL. Buffer Good, colesterol esterase < 1,5 U/mL, 4-aminoantipirina 1 mmol/L, ascorbat oxidase < 3,0 KU/L, detergente.
- S. Calibrador HDL/LDL. Soro humano. A concentração vem indicada na etiqueta do frasco.

Todos os componentes de origem humana resultaram ser negativos para o antígeno HBs e para os anticorpos anti-HCV e anti-HIV. No entanto, devem ser tratados com precaução como potencialmente infecciosos.

**CONSERVAÇÃO**

Conservar a 2-8°C.  
Os reagentes são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, sempre que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.  
Indicações de deterioração: Presencia de partículas, turvação.

**PREPARAÇÃO DOS REAGENTES**

Os reagentes estão prontos para serem utilizados.  
Calibrador HDL/LDL: reconstituir com 1,0 mL de água destilada. Estável 1 semana a 2-8°C ou durante 2 meses a -18°C congelado em alíquotas.

**EQUIPAMENTO ADICIONAL**

- Banho de água a 37°C
- Analisador, espectrofotómetro ou fotómetro com cubete termostável a 37°C para leituras a (comprimento de onda principal) 600 ± 20 nm (comprimento de onda secundária) 700 ± 20 nm.

**AMOSTRAS**

Soro ou plasma recolhidos através de procedimentos standard.  
O Colesterol HDL no soro ou plasma é estável 7 dias a 2-8°C. Como anti-coagulante pode utilizar-se EDTA, lítio ou heparina sódica.

**PROCEDIMENTO**

1. Pré-aquecer os reagentes a 37°C durante uns minutos.
2. Pipetar numa cubete:(Nota 1)

Reagente A	750 µL
Amostra/Calibrador	7 µL

3. Misturar e inseri-la no porta-cubetes termostático a 37°C. Pôr o cronómetro em funcionamento. Passados 5 minutos, ler a absorvância (A<sub>1</sub>) a 600/700 nm frente à água destilada.
4. Pipetar na cubete:

Reagente B	250 µL
------------	--------

- Misturar.  
5. Depois de 5 minutos, ler a absorvância (A<sub>2</sub>) a 600/700 nm.

**CÁLCULOS**

A concentração de colesterol HDL é calculada a partir da seguinte fórmula geral:

$$\frac{(A_2 - A_1) \text{ Amostra}}{(A_2 - A_1) \text{ Calibrador}} \times C \text{ Calibrador} = C \text{ Amostra}$$

**VALORES DE REFERÊNCIA**

As concentrações de colesterol de HDL variam consideravelmente com a idade e o sexo. O seguinte valor discriminante foi recomendado para identificar indivíduos com elevado risco de doença coronária<sup>2</sup>.

Até 35 mg/dL = 0,91 mmol/L	Risco elevado
> 60 mg/dL = > 1,56 mmol/L	Risco baixo

**CONTROLO DE QUALIDADE**

Recomenda-se o uso dos Soros Controlo de Lípidos níveis I (cod. 18040) e II (cod. 18041) para verificar a funcionalidade do procedimento de medida.  
Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio programa de Controlo de Qualidade interna, assim como procedimentos de correcção no caso dos os controlos não cumprirem com as tolerâncias aceitáveis.

**CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS**

- Limite de detecção: 0,5 mg/dL = 0,01 mmol/L.
- Limite de lineamento: 200 mg/dL = 5,18 mmol/L.
- Repetibilidade (intra-ensaio):

Concentração média	CV	n
32,9 mg/dL = 0,85 mmol/L	0,8 %	20
50,6 mg/dL = 1,31 mmol/L	0,5 %	20

- Reprodutibilidade (inter-ensaio):

Concentração média	CV	n
32,8 mg/dL = 0,85 mmol/L	1,3 %	40
50,0 mg/dL = 1,30 mmol/L	1,5 %	40

- Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças significativas ao serem comparados com os reagentes de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão disponíveis sob solicitação.
- Interferências: Hemoglobina (10 g/L), lipemia (triglicéridos 18 g/L) e bilirrubina (60 mg/dL) não interferem. Outros fármacos e substâncias sim podem interferir.

Estes dados foram obtidos utilizando um analisador. Os resultados podem variar ao substituir o instrumento ou ao realizar o procedimento manualmente.

**CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS**

As HDL participam na captação do colesterol dos tecidos e no seu transporte ao fígado onde se elimina em forma de ácidos biliares.

Existe uma correlação positiva entre as concentrações baixas de HDL-colesterol no plasma e na incidência de aterosclerose, base do infarto de miocárdio e acidentes cerebrovasculares<sup>4,5</sup>.

Existem diversos estados patológicos ou influências ambientais associados com os níveis reduzidos de HDL: doenças hepatocelulares agudas ou crónicas, hiperalimentação intravenosa, malnutrição severa, diabetes, anemia crónica, alterações mieloproliferativas, doença de Tangier, analfalipoproteinemia, estresse agudo, alguns medicamentos e o tabaco<sup>4,5</sup>.

O diagnóstico clínico não deve ser realizado considerando o resultado de um único ensaio, senão que deve integrar os dados clínicos e de laboratório.

**NOTAS**

1. Podem-se modificar os volumes da amostra e do Reagente B, mantendo a mesma proporção.
2. Estes reagentes podem ser utilizados na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Warnick GR Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clin Chem* 2001; 47: 1579-96.
2. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.