

COD 11648 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Reagentes para medir a concentração de colesterol HDL Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos

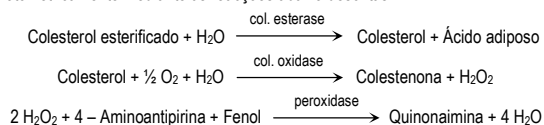
CHOLESTEROL HDL PRECIPITATING REAGENT



COLESTEROL HDL REAGENTE PRECIPITANTE

FUNDAMENTO DO MÉTODO

As lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e de baixa densidade (LDL) presentes na amostra, precipitam na presença de fosfotungstato e íons de magnésio. O sobrenatante contém as lipoproteínas de elevada densidade (HDL), cujo colesterol se quantifica espectrofotometricamente mediante as reacções abaixo descritas^{1,2}.



CONTEÚDO E COMPOSIÇÃO

- A. Reagente: 1 x 50 mL. Fosfotungstato 0,4 mmol/L, cloreto de magnésio 20 mmol/L.
S. Padrão de Colesterol HDL: 1 x 5 mL. Colesterol 15 mg/dL. Padrão primário aquoso.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C.

O Reagente e o Padrão são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, desde que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração:

- Reagente: Presença de partículas ou turvação.
- Padrão: Presença de partículas ou turvação.

REAGENTES AUXILIARES

Estes reagentes auxiliares devem ser utilizados junto com o Reagente do Colesterol contido em qualquer um dos kits de Colesterol BioSystems (Cod. 11805, 11505, 11506, 11539)

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Tanto o Reagente como o Padrão estão prontos para o seu uso.

MATERIAL ADICIONAL

- Centrífuga de bancada
- Banho de água a 37°C (opcional)
- Analizador, espectrofotómetro ou fotómetro para leituras a 500 ± 20 nm

AMOSTRAS

Soro ou plasma recolhidos mediante procedimentos standard.

O Colesterol HDL no soro ou plasma é estável 7 dias a 2-8°C. Os anticoagulantes como a heparina, EDTA, oxalato ou fluoreto, não interferem.

PROCEDIMENTO

Precipitação

- Pipetar num tubo de centrífuga (Nota 1):

Amostra	0,2 mL
Reagente (A) (kit de Colesterol HDL)	0,5 mL

- Agitar bem e deixar durante 10 minutos à temperatura ambiente.
- Centrifugar durante 10 minutos a um mínimo de 4.000 r.p.m.
- Recolher com cuidado o sobrenatante (Nota 2).

Colorimetria

- Conduzir o Reagente (kit de Colesterol) à temperatura ambiente.
- Pipetar em tubos de ensaio: (Nota 3)

	Branco	Padrão	Amostra
Água destilada	100 µL	—	—
Padrão Colesterol HDL (S)	—	100 µL	—
Sobrenatante amostra	—	—	100 µL
Reagente (A) (kit de Colesterol)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- Agitar bem e incubar os tubos durante 30 minutos à temperatura ambiente (16-25°C) ou durante 10 minutos a 37°C.
- Ler a absorbância (A) do Padrão e da Amostra contra o Branco a 500 nm. A cor é estável durante pelo menos 30 minutos.

CÁLCULOS

A concentração de colesterol HDL na amostra calcula-se a partir da seguinte fórmula geral:

$$\frac{A_{\text{Amostra}}}{A_{\text{Padrão}}} \times C_{\text{Padrão}} \times \text{Factor de diluição da amostra} = C_{\text{Amostra}}$$

Utiliza-se para calibrar o Padrão de Colesterol HDL fornecido (Nota 4):

$\frac{A_{\text{Amostra}}}{A_{\text{Padrão}}}$	x 52,5 = mg/dL colesterol HDL
$\frac{A_{\text{Amostra}}}{A_{\text{Padrão}}}$	x 1,36 = mmol/L colesterol HDL

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 doenças coronárias³.

Até 35 mg/dL = 0,91 mmol/L	Elevado
> 60 mg/dL = > 1,56 mmol/L	Baixo

CONTROLE DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controle 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 Controle de Qualidade interno, assim como procedimentos de correcção como nos casos em que os controlos não cumpram com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Limite de detecção: 0,3 mg/dL = 0,008 mmol/L
- Limite de linearidade: 150 mg/dL = 3,9 mmol/L
- Repetibilidade (intraensaio):

Concentração média	CV	n
30 mg/dL = 0,78 mmol/L	3,3 %	20
55 mg/dL = 1,42 mmol/L	2,0 %	20

- Reprodutibilidade (interensaio):

Concentração média	CV	n
30 mg/dL = 0,78 mmol/L	4,2 %	25
55 mg/dL = 1,42 mmol/L	3,2 %	25

- Sensibilidade analítica: 1,75 mA·dL/mg = 67,6 mA·L/mmol
- Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não mostram diferenças sistemáticas significativas quando comparados com reagentes de referência (Nota 4). Os detalhes do estudo comparativo estão abaixo disponíveis.
- Interferências: A lipemia (triglicéridos 10 g/L) não interferem. A hemólisis (hemoglobina > 5 g/L) e a bilirrubina (> 10mg/dL) podem interferir. Outros medicamentos e substâncias podem interferir⁴.

Estes dados foram obtidos utilizando um analizador. Os resultados podem variar ao mudar de equipamento ou ao realizar-se o procedimento manualmente.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

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

Existe uma correlação positiva entre concentrações baixas de HDL-colesterol no plasma e a incidência de arteriosclerose, base do infarte de miocárdio e acidentes cerebrovasculares^{5,6}.

Existem diversos estados patológicos ou influências ambientais associados com níveis reduzidos de HDL: doenças hepatocelulares agudas ou crónicas, hiperalimentação intravenosa, mal-nutrição aguda, diabetes, anemia crónica, alterações mieloproliferativas, doença de Tangier, analfalipoproteinemia, estrés agudo, alguns medicamentos e o tabaco^{5,6}.

O diagnóstico clínico não deve realizar-se tendo em conta o resultado de um único teste, mas deve integrar-se nos dados clínicos e de laboratório.

NOTAS

- Podem-se modificar os volumes da amostra e do Reagente A, mantendo a mesma proporção.
- O sobrenatante deve ser completamente claro. No caso de persistir a turvação ou de não se obter uma boa sedimentação do precipitado, adicionar outros 0,5 mL de Reagente A, misturar bem e centrifugar novamente. Multiplicar o resultado obtido por 1,7 para corrigir a diluição efectuada.
- Estes reagentes podem utilizar-se na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.
- A calibração com o padrão aquoso fornecido pode causar declives, especialmente em alguns analisadores. Nestes casos, recomenda-se a calibração usando um padrão de base sérica (Calibrador Bioquímica, cod. 18011 e 18044).

BIBLIOGRAFIA

- Grove TH. Effect of reagent pH on determination of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium. *Clin Chem* 1979; 25: 560-564.
- Burstein M, Scholnick HR and Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Scand J Clin Lab Invest* 1980; 40: 583-595.
- 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.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
- Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.