

COD 11585 1 x 80 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Reagentes para medir a concentração do colesterol LDL Só para uso <i>in vitro</i> nos laboratórios clínicos

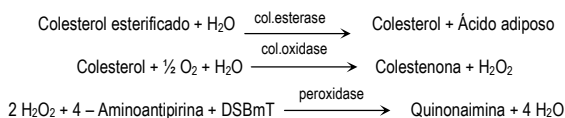
CHOLESTEROL LDL DIRECT



COLESTEROL LDL DIRECTO DETERGENTE

FUNDAMENTO DO MÉTODO

Um detergente específico dissolve o colesterol das proteínas de alta densidade (HDL), as de muito baixa densidade (VLDL) e os quilomícrons. Os ésteres de colesterol são hidrolizados pela colesterol esterase e a colesterol oxidase mediante uma reação não formadora de cor. O segundo detergente, presente no reagente B, solubiliza o colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) da amostra. O colesterol do LDL é quantificado espectrofotometricamente através das reações acopladas descritas a seguir¹.



CONTEÚDO E COMPOSIÇÃO

A. Reagente. 1 x 60 mL. Buffer MES > 30 mmol/L, colesterol esterase < 1,5 U/mL, colesterol oxidase < 1,5 U/mL, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L, ascorbat oxidase < 3,0 U/L, peroxidase > 1 U/mL, detergente, pH 6,3.

B. Reagente. 1 x 20 mL. Buffer MES > 30 mmol/L, N,N-bis(4-sulfobutil)-m-toluidina (DSBmT) 1 mmol/L, detergente, pH 6,3.

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: Presença 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 recipiente celular termo-estável a 37°C e capaz de ler o (comprimento de onda principal) 546 ± 20 nm e (sub-comprimento de onda) 700 nm ± 50 m.

AMOSTRAS

O soro, o plasma tratado com EDTA ou o plasma heparinizado de sódio serão recolhidos seguindo procedimentos padrão.

O Colesterol LDL no soro é estável 4 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

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

Reagente A Amostra/Calibrador	750 µL 7 µL
----------------------------------	----------------

3. Misturar e inseri-la no porta-cuvetes termostático a 37°C. Pôr o cronómetro em funcionamento. Passados 5 minutos, ler a absorvância (A₁) a 546/700 nm frente à água destilada.

4. Pipetar na cuvete:

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

Misturar.

5. Depois de 5 minutos, ler a absorvância (A₂) a 546/700 nm.

CÁLCULOS

A concentração de colesterol LDL 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

Os seguintes valores discriminantes universais foram estabelecidos pelo US National Cholesterol Education Program e também aceites em outros países para a avaliação do risco de doença das artérias coronárias².

Até 100 mg/dL = 2,59 mmol/L	Ótimo
100-129 mg/dL = 2,59-3,34 mmol/L	Quase ótimo
130-159 mg/dL = 3,37-4,12 mmol/L	Moderado
160-189 mg/dL = 4,14 -4,90 mmol/L	Elevado
> 190 mg/dL = 4,92 mmol/L	Muito elevado

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controlos 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: 0,28 mg/dL = 0,007 mmol/L

– Limite de lineamento: 990 mg/dL = 25,6 mmol/L.

– Repetibilidade (intra-ensaio):

Concentração média	CV	n
146 mg/dL = 3,78 mmol/L	0,7 %	20
210 mg/dL = 5,43 mmol/L	0,6 %	20

– Reprodutibilidade (inter-ensaio):

Concentração média	CV	n
143 mg/dL = 3,70 mmol/L	2,0 %	40
207 mg/dL = 5,35 mmol/L	1,7 %	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: Lipemia (triglicéridos 12,9 g/L), hemoglobina (5 g/L) e bilirrubina (20 mg/dL) não interferem. Outros fármacos e substâncias sim podem interferir³.

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

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

As LDL são as principais lipoproteínas que transportam o colesterol hepático aos tecidos.

Existe uma correlação positiva entre as concentrações elevadas de LDL-colesterol no plasma e na incidência de aterosclerose, base do infarto de miocárdio e acidentes cerebrovasculares^{4,5}.

Existem diversos estados patológicos ou influências ambientais associados com níveis elevados de LDL: nefrose, diabetes, obesidade, alguns medicamentos e o tabaco^{4,5}.

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, mantendo a mesma proporção.
2. Estes reagentes podem ser utilizados na maioria dos analisadores automáticos. Solicite informação ao seu distribuidor.

BIBLIOGRAFIA

1. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin Chem* 2002; 48: 236-54.
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.