



Colestat

enzimático AA

Método enzimático para a determinação de colesterol em soro ou plasma

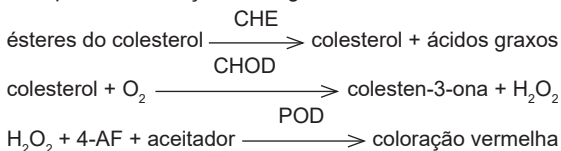
SIGNIFICADO CLÍNICO

A determinação de colesterol em forma isolada, tem utilidade diagnóstica limitada. Entretanto, sua concentração varia de maneira mais ou menos previsível em um grande número de condições clínicas. Foi observado que o colesterol é um dos fatores que contribuem à formação de ateromas visto que as complicações arterioescleróticas prevalecem em indivíduos hipercolesterolêmicos.

Diversos estudos epidemiológicos permitem, ainda, observar, que o risco de contrair doença cardiovascular (DCV) para os indivíduos homens maiores de 40 anos com colesterolemia menor ou igual a 2,10 g/l é 3 vezes menor que entre indivíduos com mais de 2,30 g/l e 6 vezes menor que entre indivíduos com mais de 2,60 g/l.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A seqüência de reação é a seguinte:



REAGENTES FORNECIDOS

S. Padrão: solução de colesterol 2 g/l. Vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO.

A. Reagente A: frascos com colesterol esterase (CHE), colesterol oxidase (CHOD), peroxidase (POD) e 4-aminofenazona (4-AF).

B. Reagente B: solução de tampão Good, pH 6,8, contendo fenol e colato de sódio.

Concentrações finais

CHE.....	≥ 100 U/l
CHOD.....	≥ 100 U/l
POD.....	≥ 1000 U/l
4-AF.....	0,2 mmol/l
Good.....	50 mmol/l, pH 6,8
Fenol.....	15 mmol/l
Colato de sódio.....	0,2 mmol/l

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Calibrador A plus da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagente de Trabalho: dissolver o conteúdo do frasco de Reagente A com uma parte Reagente B. Depois, colocá-lo dentro do frasco de Reagente B, lavando-o várias vezes

com a preparação. Misturar até dissolução completa. Homogeneizar e datar.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas. Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulamentação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Reagente de Trabalho: estável sob refrigeração (2-10°C) 60 dias a contar da data de sua preparação.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAMENTO DOS REAGENTES

Descartar os reagentes quando as leituras do Branco estejam acima de 0,160 D.O.

AMOSTRA

Soro ou plasma

a) Coletar: obter da forma usual.

b) Aditivos: se a amostra a utilizar for plasma, recomenda-se o uso de heparina como anticoagulante para sua obtenção.

c) Substâncias interferentes conhecidas:

- Sem contar a heparina, os anticoagulantes comuns interferem na determinação.

- Os soros com hemólise visível produzem valores falsamente aumentados e, portanto, não devem ser utilizados.

- Não observam-se interferências por bilirrubina até 80 mg/l, ácido ascórbico até 75 mg/l, ácido úrico até 200 mg/l, nem hemólise ligeira.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: o colesterol em soro é estável durante um período de até 1 semana sob refrigeração e 2 meses congelado, sem acrescentar conservantes.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.
- Micropipeta e pipetas para medir os volumes indicados.
- Tubo cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.
- Banho-maria 37°C.
- Relógio ou timer.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 505 nm em espectrofotômetro ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm).
 - Temperatura de reação: 37°C
 - Tempo de reação: 5 minutos
 - Volume de amostra: 10 ul
 - Volume do Reagente de Trabalho: 1 ml
 - Volume final de reação: 1,01 ml
- Os volumes de Amostra e de Reagente podem ser modificadas proporcionalmente (Ex.: 20 ul de Amostra + 2 ml de Reagente de Trabalho ou 50 ul + 5 ml).

PROCEDIMENTO

Em três tubos de fotocolorímetro ou cubas espectrofotométricas marcadas B (Branco), P (Padrão) e D (Desconhecido), colocar:

	B	P	D
Padrão	-	10 ul	-
Amostra	-	-	10 ul
Reagente de Trabalho	1 ml	1 ml	1 ml

Colocar em banho-maria durante 5 minutos a 37°C ou 20 minutos a temperatura ambiente (25°C). Depois, ler no espectrofotômetro a 505 nm ou em fotocolorímetro com filtro verde (490-530 nm), zerando o aparelho com o Branco.

ESTABILIDADE DA MISTURA DA REAÇÃO FINAL

A cor da reação final é estável 30 minutos. Ler a absorbância durante este período.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

$$\text{colesterol (g/l)} = D \times f \quad \text{onde } f = \frac{2,00 \text{ g/l}}{P}$$

CONVERSÃO DE UNIDADES

- colesterol (g/l) = colesterol (mg/dl) x 0,01
- colesterol (mmol/l) = colesterol (g/l) x 2,59
- colesterol (g/l) = colesterol (mmol/l) x 0,39

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de colesterol, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

O painel de expertos do National Cholesterol Education Program (NCEP) fornece os seguintes valores de colesterol:

- Ótimo: < 2,00 g/l
- Moderadamente alto: 2,00 - 2,39 g/l
- Elevado: ≥ 2,40 g/l

No entanto, é recomendável que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos ou valores de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Vide Substâncias Interferentes conhecidas em Amostra.
- Os redutores diminuem a resposta de cor, em quanto que os oxidantes colorem o Reagente aumentando os Brancos.
 - Os detergentes, metais pesados e cianetos são inibidores enzimáticos.
 - Não utilizar o Padrão em analisadores automáticos, posto que existem diferenças entre sua tensão superficial e a do soro, resultante do dissolvente empregado na preparação.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando duplicatas das mesmas amostras em 10 dias diferentes, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
1,24 g/l	± 0,043 g/l	3,49 %
3,31 g/l	± 0,115 g/l	3,48 %

b) Recuperação: acrescentando quantidades conhecidas de colesterol aos diferentes soros, obteve-se uma recuperação entre 98 e 101%, para todo o nível de colesterol entre 1,90 e 4,79 g/l.

c) Limite de detecção: depende do fotômetro empregado. Para a leitura de 0,001 D.O. a variação mínima de concentração detectável será aproximadamente de 0,0063 g/l.

d) Linearidade: a reação é linear até 5 g/l. Em valores superiores, diluir a metade da solução com o Branco e repetir a leitura multiplicando o resultado final por 2.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve ser utilizado **Calibrador A plus** de Wiener lab., conforme os requerimentos do analisador.

APRESENTAÇÃO

1 x 100 ml (Cód. 1220110).













Empregando os reagentes **Colestat enzimático AA** junto com **HDL Colesterol Reactivo Precipitante**, **HDL Colesterol FT** e **LDL Colesterol Reactivo Precipitante** (fornecidos separadamente por Wiener lab.) é possível determinar o colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade (HDL colesterol) e às lipoproteínas de baixa densidade (LDL colesterol).

REFERÊNCIAS

- Abell, L.L. et al. - J. Biol. Chem. 195:357 (1952).
- Allain, C.C. et al. - Clin. Chem. 20:470 (1974).
- American Health Foundation - Position statement on diet and coronary heart disease - pág. 255 (1972).
- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 87/3:459 F (1978).
- Trinder, P. - Ann. Clin. Biochem. 6/24 (1969).
- Coniglio, R.L. - Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXIII/2:201, (1989).
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.

	Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"		Elaborado por:
<input type="checkbox"/> EC <input type="checkbox"/> REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Nocivo
<input type="checkbox"/> IVD	Uso médico-diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Caústico
	Conteúdo suficiente para <n> testes		Irritante
	Data de validade		Consultar as instruções de uso
	Limite de temperatura (conservar a)	<input type="checkbox"/> Calibr.	Calibrador
	Não congelar	<input type="checkbox"/> CONTROL	Controle
	Risco biológico	<input type="checkbox"/> CONTROL +	Controle Positivo
	Volume após a reconstituição	<input type="checkbox"/> CONTROL -	Controle Negativo
<input type="checkbox"/> Cont.	Conteúdo	<input type="checkbox"/> REF	Número de catálogo
<input type="checkbox"/> LOT	Número de lote		