



# HDL Colesterol

## *monofase AA v.2*

Método colorimétrico homogêneo para a determinação de HDL-colesterol em soro ou plasma

### SIGNIFICADO CLÍNICO

As lipoproteínas plasmáticas são partículas arredondadas que contêm quantidades variáveis de colesterol, triglicerídeos, fosfolipídios e proteínas. Os fosfolipídios, o colesterol livre e as proteínas constituem a superfície externa da partícula lipoproteica, sendo que suas cores contêm em maior quantidades colesterol esterificado e triglicerídeos. Estas partículas solubilizam e transportam o colesterol na corrente sanguínea.

As proteínas das lipoproteínas podem ter diferentes funções: estabilização da estrutura, reconhecimento celular em tecidos periféricos e inter-relação com outras lipoproteínas que permitem a troca de material entre elas.

A proporção relativa de proteína e lipídios determina a densidade destas lipoproteínas e provém as bases sobre as quais se pode estabelecer uma classificação. As 4 classes mais importantes são (em ordem crescente de densidade): quilomicrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL - Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baixa densidade (LDL - Low Density Lipoproteins) e lipoproteínas de alta densidade (HDL - High Density Lipoproteins). Diferentes estudos clínicos demonstraram que as variadas classes de lipoproteínas têm diferentes e variados efeitos no risco de doenças coronárias.

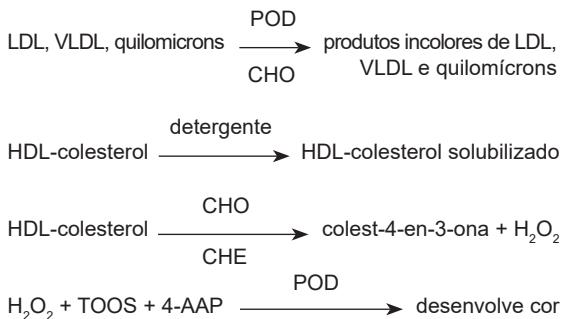
A função principal das HDL no metabolismo lipídico é a captação e transporte de colesterol desde os tecidos periféricos ao fígado com um processo conhecido como transporte reverso do colesterol (mecanismos cardioprotetivos). As HDL são muito menores do que as outras lipoproteínas e são as mais abundantes do ponto de vista numérico.

A elevação do colesterol HDL (HDL-C) pode significar um maior transporte reverso de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, o que teria um efeito antiaterogênico, mas também pode haver uma alteração na sua eliminação hepática que implicaria um efeito proaterogênico. Da mesma forma, valores baixos de HDL-C podem não indicar um problema no transporte reverso de colesterol, mas uma alta taxa de depuração hepática, caso em que a baixa concentração de HDL-C não se correlacionaria com os efeitos proaterogênicos, mas antiaterogênicos como acontece com o genótipo Apo AI Milano.

No entanto, o HDL-colesterol baixo, está associado com um alto risco de doença cardíaca. Portanto, a determinação de HDL-colesterol é uma ferramenta útil na identificação de indivíduos com alto risco.

### FUNDAMENTOS DO MÉTODO

Este é um método bireagente homogêneo para a determinação de HDL-colesterol (HDL-C). Durante a primeira fase da reação é solubilizado e consumido o colesterol livre associado às proteínas distintas da HDL em uma reação que envolve a colesterol oxidase (CHO) e peroxidase (POD), o que origina um produto sem cor. Em uma segunda fase, as HDL são especificamente solubilizadas por um detergente. O HDL-colesterol é liberado para reagir com colesterol esterase (CHE), CHO, 4-APP (4-aminoantipirina) e N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina dissódica (TOOS), dando um produto colorido que é lido a 540-600 nm.



### REAGENTES FORNECIDOS

**A. Reagente A:** solução de colesterol oxidase (< 3000 U/l), peroxidase (< 5000 U/l) e N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina dissódica (TOOS) (< 1 mM), em tampão de Good, com estabilizante e conservador apropriados.

**B. Reagente B:** solução de detergente (< 2%), colesterol esterase (< 3000 U/l) e 4-aminoantipirina (4-AAP) (< 1 mM), em tampão de Good, conservadores e estabilizante apropriados.

**Calibrador\*:** soro humano liofilizado contendo lipoproteínas de diferentes tipos incluindo HDL. A concentração é variável de acordo com o lote (vide concentração no rótulo).

### REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Água destilada.
- **HDL Cholesterol Calibrator** (para as apresentações que não fornecem Calibrador)

### INSTRUÇÕES DE USO

**Reagentes A e B:** prontos para uso.

**Calibrador:** reconstituir com o volume de água destilada indicado no rótulo. Tampar o frasco e deixar em repouso du-

rante 5 minutos. Ajudar à dissolver homogeneizando o frasco suavemente, evitando a formação de espuma. Não agitar.

## PRECAUÇÕES

- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
- Não pipetar com a boca.
- O Calibrador foi examinado para HBsAg, HCV e anticorpos contra os vírus HIV 1/2 encontrando-se não reativo. O mesmo deve ser utilizado como se tratando de material infectante.
- Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.
- Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme à regulação local vigente.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar. Uma vez utilizados, os reagentes são estáveis durante 4 semanas sob refrigeração (2-10°C). Uma vez reconstituído, o Calibrador é estável por 1 semana sob refrigeração (2-10°C) ou 1 mês congelado (-20°C). Não congelar e descongelar repetidamente.

## AMOSTRA

Soro ou plasma

- a) Coleta:** obter a amostra da maneira habitual.
- b) Aditivos:** heparina ou EDTA quando for utilizado plasma como amostra.
- c) Substâncias interferentes conhecidas:** não são observadas interferências por ácido ascórbico até 25 mg/dl, hemoglobina até 1000 mg/dl, bilirrubina até 50 mg/dl, nem triglicerídeos até 3000 mg/dl. (Vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO).
- Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas e doenças neste método.
- c) Estabilidade e instruções de armazenamento:** centrifugar e separar o soro do coágulo dentro das 3 horas após a coleta. Caso não seja processada na hora, as amostras podem ser conservadas durante 1 semana sob refrigeração (2-10°C).

## MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Material volumétrico para medir os volumes indicados.
- Analisador automático.

### PROCEDIMENTO

(analisador automático)

A seguir, detalha-se um procedimento geral para **HDL Colesterol monofase AA v.2** em um analisador automático. Quando for utilizada a técnica para um analisador em particular, as instruções de trabalho do mesmo devem ser seguidas.

<b>Amostra ou Calibrador</b>	3 ul
<b>Reagente A</b>	300 ul

Incubar durante 8 minutos a 37°C. Leitura de absorvância a 540-600 nm (Branco de Amostra).

<b>Reagente B</b>	100 ul
-------------------	--------

Incubar durante 5 minutos a 37°C. Leitura do resultado a 540-600 nm (concentração de HDL-colesterol).

## CALIBRAÇÃO

O Calibrador deve ser processado da mesma maneira que as amostras. As concentrações do Calibrador se encontram ao redor dos níveis do critério médico e são variáveis lote a lote (vide concentração no rótulo). Ingressar o valor de concentração do calibrador cada vez que mudar o lote.

## MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

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

## VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores esperados de HDL colesterol são os seguintes:

Homens: 30 - 70 mg/dl

Mulheres: 30 - 85 mg/dl

O painel de expertos do National Cholesterol Education Program (NCEP) fornece os seguintes valores de HDL-colesterol: 40-60 mg/dl

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência. No entanto, valores maiores de 40 mg/dl são considerados recomendáveis e os que se encontram acima de 60 mg/dl são considerados de proteção. Porém, valores de HDL-colesterol abaixo de 40 mg/dl são consideramos como índice significativo de risco de doença cardíaca coronária.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Não devem ser utilizados anticoagulantes que contenham citrato.

Não expor os reagentes à luz.

Conservar os reagentes conforme às instruções.

## PERFORMANCE

**a) Precisão:** processando simultaneamente replicados de uma mesma amostra em um mesmo dia, obteve-se:

Nível	D.S.	C.V.
31,1 mg/dl	± 0,59 mg/dl	1,9 %
48,1 mg/dl	± 0,33 mg/dl	0,7 %
58,3 mg/dl	± 0,29 mg/dl	0,5 %

Processando a mesma amostra em dias diferentes, obteve-se:

Nível	D.S.	C.V.
31,1 mg/dl	± 0,23 mg/dl	2,4 %
48,1 mg/dl	± 0,67 mg/dl	1,4 %
58,3 mg/dl	± 0,64 mg/dl	1,1 %

**b) Linearidade:** a reação é linear até 150 mg/dl. Para va-

lores superiores, diluir a amostra com solução fisiológica e multiplicar o resultado pelo fator de diluição utilizado.

**c) Limite de detecção:** a mínima concentração quantificável de HDL-colesterol é 3 mg/dl.

**d) Recuperação:** acrescentando quantidades conhecidas de HDL-colesterol a distintos soros, obteve-se uma recuperação entre 99,1 e 101,6%.

## PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para as instruções de programação deve-se consultar o manual de uso do analisador.

## APRESENTAÇÃO


- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), com Calibrador (Cód. 1220231)
- 80 ml (1 x 60 ml + 1 x 20 ml), sem Calibrador (Cód. 1220239)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), com Calibrador (Cód. 1009401)
- 80 ml (2 x 30 ml + 2 x 10 ml), com Calibrador (Cód. 1009264)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), com Calibrador (Cód. 1009702)
- 160 ml (2 x 60 ml + 2 x 20 ml), com Calibrador (Cód. 1009930)

## REFERÊNCIA

- Castelli, W. et al. - Circulation, 55:767 (1977).
- Gordon, T. et al. - Am. J. Med. 62:707 (1977).
- Warnick, G. - Clin. Chem. 41:10, 1427 (1995).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 3rd ed., 1990.
- Expert Panel of National Cholesterol Education Program - JAMA 285/19:2486 (2001).
- Tietz N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunder Co., Philadelphia, pag. 256, 1986.
- Westgard, J. et al. - Clin. Chem. 20:825 (1974).
- CLSI. User verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline-second Edition. CLSI document EP15-A2 [ISBN 1-56238-574-7]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP6-A [ISBN 1-56238-498-8]. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
- CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition (Interim Revision). CLSI document EP09-A2-IR. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- Glick, M.R., K.W. Ryder, and S.A. Jackson, Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. Clin Chem, 1986. 32(3): p. 470-475.

## 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"

 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes

 Data de validade

 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico

 Volume após a reconstituição

 Conteúdo

 Número de lote

 Elaborado por:


 Nocivo

 Corrosivo / Caústico


 Irritante

 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina