



INSTRUÇÕES DE USO (Versão De/V24)

HDL DIRETO PLUS

Método enzimático

FINALIDADE

O produto HDL DIRETO PLUS é indicado somente para uso diagnóstico *in vitro* na determinação quantitativa de HDL Colesterol em soro e plasma humano.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

O ensaio consiste em 2 reações distintas:

1. A eliminação de quilomícrons, Colesterol-VLDL e Colesterol-LDL pelo colesterol esterase e pelo colesterol oxidase e subsequentemente pela catalase.

Ésteres de colesterol $\xrightarrow{\text{Colesterol esterase}}$ Colesterol + ácidos graxos

Colesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{Colesterol oxidase}}$ Colestenona + H₂O₂

2H₂O₂ $\xrightarrow{\text{Catalase}}$ 2H₂O + O₂

2. Medição específica do Colesterol HDL após a liberação do Colesterol HDL por detergentes no Reagente 2

Ésteres de colesterol $\xrightarrow{\text{Colesterol esterase}}$ Colesterol + ácidos graxos

Colesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{Colesterol oxidase}}$ Colestenona + H₂O₂

2H₂O₂ + 4-AA + HDAOS $\xrightarrow{\text{Peroxidase}}$ Pigmento de Quinona + 4H₂O

A intensidade do corante quinoneína produzido é diretamente proporcional à concentração de colesterol quando medida a 600 nm.

Na segunda reação a catalase é inibida pela azida de sódio no Reagente 2.

* Chave: 4 - AA = 4 - Aminoantipirina ; HDAOS=N-(2-hidróxido-3-sulfopropil); 3,5 dimetoxianilina

SIGNIFICADO CLÍNICO

O colesterol é o principal esteroide do organismo, estando presente em todas as células como um componente estrutural das membranas e das lipoproteínas (HDL, VLDL e principalmente, LDL). É também o precursor na formação dos hormônios esteroides pelas gônadas e córtex adrenal.

Cerca de 70 a 75% do colesterol plasmático encontra-se na forma de éster e 25 a 30% existe como colesterol livre.

A importância clínica dos lipídeos está associada a sua contribuição para a coronariopatia (CHD) e para vários distúrbios lipoprotéicos. Quando as concentrações de colesterol total e de colesterol LDL são altas, a incidência e prevalência de CHD também são altas.

Ao contrário do colesterol LDL, o aumento das concentrações de colesterol HDL mostrou ser um protetor para a CHD tanto em estudos experimentais como clínicos. Pelo fato de a aterosclerose começar na infância e poder levar décadas para manifestar-se clinicamente, a mensuração dos lipídeos e lipoproteínas plasmáticas é um meio valioso de identificar indivíduos em risco para CHD e determinar a terapia mais apropriada.

REAGENTES

Apresentação com 80 mL:

1. Reagente 1: 01 frasco com 60 mL, contendo N, N-Bis (2-hidroxietil)-2-amino etano ácido sulfônico 100mmol/L pH 7,0; HDAOS N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina 0,7 mmol/L; Colesterol Esterase 800 U/L; Colesterol Oxidase 500 U/L; Catalase 300 KU/L.

2. Reagente 2: 01 frasco com 20 mL de N, N-Bis (2-hidroxietil)-2-amino etano ácido sulfônico 100mmol/L pH 7,0; 4-Amino antipirina 4 mmol/L; Peroxidase 4 KU/L Azida Sódica 0,09% p/v.

3. Calibrador: 01 frasco contendo colesterol HDL humano liofilizado. A concentração está impressa no rótulo do frasco. Conservar entre 2-8°C.

Nota: Depois de abertos os reagentes Enzimático 1 e 2 são estáveis até a data de validade indicada no rótulo, se mantidos entre 2-8°C quando armazenados protegidos da luz, bem vedados e não sendo expostos a contaminações química e microbiana.

Apresentação com 240 mL:

1. Reagente 1: 01 frasco com 180 mL, contendo N, N-Bis (2-hidroxietil)-2-amino etano ácido sulfônico 100mmol/L pH 7,0; HDAOS N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina 0,7 mmol/L; Colesterol Esterase 800 U/L; Colesterol Oxidase 500 U/L; Catalase 300 KU/L.

2. Reagente 2: 01 frasco com 60 mL de N, N-Bis (2-hidroxietil)-2-amino etano ácido sulfônico 100mmol/L pH 7,0; 4-Amino antipirina 4 mmol/L; Peroxidase 4 KU/L Azida Sódica 0,09% p/v.

3. Calibrador: 01 frasco contendo colesterol HDL humano liofilizado. A concentração está impressa no rótulo do frasco. Conservar entre 2-8°C.

Nota: Depois de abertos os reagentes Enzimático 1 e 2 são estáveis até a data de validade indicada no rótulo, se mantidos entre 2-8°C quando armazenados protegidos da luz, bem vedados e não sendo expostos a contaminações química e microbiana.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro

Centrífuga

Banho-maria

Cronômetro

Vidraria

Pipetas manuais ou automáticas

Água destilada ou deionizada

CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperaturas na faixa de 15-25°C, até um limite de 48 horas.

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C. Não congelar. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

1. Somente para uso diagnóstico "*in vitro*".

2. O calibrador contém derivados do sangue humano e apresentou resultados negativos para a presença de HBsAg e HIV utilizando testes aprovados. Entretanto, nenhum teste conhecido pode assegurar que produtos derivados de sangue humano não transmitam doenças infecciosas. Recomendamos o manuseio como sendo material potencialmente infectante.

3. Os reagentes contêm azida sódica, irritante para a pele e mucosas. Caso haja contato com quaisquer desses reagentes, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato.

4. Não dispensar em tubulação contendo ferro galvanizado.

5. Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, calibrador ou reagente a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.

6. Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.

7. O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, serem calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.

8. Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.

9. Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.

10. Ver cuidados no armazenamento e transporte dos reagentes.

11. Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.

12. Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes.

13. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

14. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.

15. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.

16. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro ou plasma (heparina, EDTA).

Sob refrigeração (2-8°C), o soro é estável por 6 dias. As amostras são estáveis 30 dias a -20°C e por um ano quando armazenadas até -70°C. Se alguma amostra apresentar precipitado, centrifugar antes de usar.

PROCEDIMENTO

Preparo do Calibrador: Deixar o frasco do calibrador a temperatura ambiente por 10 minutos. Adicionar 1,0mL de água destilada ao conteúdo do frasco. Aguardar 10 minutos e homogeneizar com movimentos circulares. Estável por 03 dias entre 2-8°C e 30 dias a -20°C. Recomendamos separar o calibrador em alíquotas antes do congelamento. Após descongelar, homogeneizar antes da utilização. O material congelado deve ser degelado uma única vez.

Nota: É fundamental que a água utilizada para a reconstituição do calibrador seja de boa qualidade, para evitar a deteriorização do mesmo e alteração dos resultados analisados.

Dosagem (Soro ou Plasma)

Separar 2 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Teste	Calibrador
Amostra	0,01mL	-
Calibrador	-	0,01mL
Reagente 1	0,75mL	0,75mL

Homogeneizar bem e colocar no banho-maria a 37°C durante 5 minutos. Determinar as absorbâncias do teste e do calibrador em 600 nm, acertando o zero com água deionizada. As absorbâncias encontradas serão **A1**.

	Teste	Calibrador
Reagente 2	0,25mL	0,25mL

Homogeneizar bem e colocar no banho-maria a 37°C durante 5 minutos. Determinar as absorbâncias do teste e do calibrador em 600 nm, acertando o zero com água deionizada. As absorbâncias encontradas serão **A2**.

Nota: Este procedimento não se aplica para analisadores semi-automáticos que utilizam somente cubeta de fluxo.

CÁLCULOS

1. Colesterol HDL (mg/dL) = [Abs. Teste (A2 - A1_{Cor.}) ÷ Abs. Calibrador (A2 - A1_{Cor.})] x Concentração do Calibrador
2. Fator de calibração = Concentração do Calibrador ÷ Abs. Calibrador (A2 - A1_{Cor.})
3. Colesterol HDL (mg/dL) = Abs. Teste (A2 - A1_{Cor.}) x Fator

*Correção: A primeira leitura da absorbância (A1) deverá ser corrigida para o volume final da reação obtendo-se A1_{corrigido}, antes do cálculo da concentração de HDL. A1_{Cor.} = A1 x 0,75.

Exemplo:

Teste: A1 = 0,002A1_{Cor.} = 0,0015A2 = 0,111
Calibrador: A1 = 0,002 A1_{Cor.} = 0,0015A2 = 0,037
Concentração do Calibrador: 20mg/dL
Colesterol HDL (mg/dL): [(0,111 - 0,0015) ÷ (0,037 - 0,0015)] x 20 = 61,7
Fator de Calibração: 20 ÷ (0,037 - 0,0015) = 563
Colesterol HDL (mg/dL): (0,111 - 0,0015) x 563 = 61,7

VALORES DE REFERÊNCIA

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de referência na sua população atendida. Os valores abaixo são fornecidos como orientação.
Soro ou plasma

Idade	Desejável
2-9 anos	≥ 40 mg/dL
10-19 anos	≥ 35 mg/dL
>20 anos	≥ 40 mg/dL

LINEARIDADE

A reação é linear até 130 mg/dL. Para valores acima de 130 mg/dL, diluir a amostra com água destilada. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade: 100%

Exatidão: A comparação com método similar validado demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,97 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: Y = 0.936x + 2,53, que demonstra uma exatidão de 97%.

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	11
Desvio Padrão	0,5
Coeficiente de Variação (%)	4,0

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	10,5
Desvio Padrão	0,5
Coeficiente de Variação (%)	3,3

Sensibilidade analítica: A concentração mínima detectável de Colesterol HDL foi determinada repetindo e testando diluições de um soro de controle apropriado. A sensibilidade determinada foi de 3 mg/dL.

INTERFERENTES

O Ensaio não é afetado por amostras ictericas (bilirrubina <30 mg/dL), fatores reumatóides <1000IU/mL, amostras hemolisadas (Hb <500mg/dL) e amostras lipêmicas (triglicérides <1200 mg/dL). Amostras lipêmicas com uma concentração >1200 mg/dL devem ser diluídas 1 + 9 com NaCl 0.9% (p/v) antes de ensaiar. O resultado obtido deve ser multiplicado por 10.
Substâncias que aumentam o nível de colesterol: cimetidinas, etanol e ácido nicotínico.
Resultados diminuídos: pacientes com diabetes, obesidade, sedentarismo, fumantes, CHD entre outros.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement Triglyceride, High Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. Washington D. C. Feb 26-28, 1992.
2. Izawa S., Okada M., Matsui H., and Horita Y. J. Medicine and Pharmaceutical Sci., 1385 - 1388, 37 (1997).
3. Shih WJ, Bachorik PS, Haga JÁ, Myers GL, Stein EA; Clinical Chemistry, 2000; 46:3:351-364.
4. Third Report of the National Cholesterol Education Programme (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), JAMA Publication, Vol 285, No. 19, P 2486-2497; 2001.
5. Jacobs, D. et al. In Laboratory and Test Handbook; Jacobs, D.S: Kasten, B.L., De Mott, W.R., Wolfson, W.L., Eds; Lexi - Comp Inc: Hudson (Cleveland); 1990 P. 219.
6. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 6nd Ed., pg. 426, Saunders Press, Phila. 2008
7. Katal: Dados de Arquivo

APRESENTAÇÃO

	Apresentação 80 mL	Apresentação 240 mL
1. Reagente 1	1 x 60 mL	1 x 180 mL
2. Reagente 2	1 x 20 mL	1 x 60 mL
3. Calibrador	Liofilizado	Liofilizado

CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

1. A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407

e-mail: sac@katal.com.br



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG - Brasil - CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga - CRBio 076936/04-D

ANVISA: 10377390190

Data da última revisão: 17/12/2024

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote