



Instruções de Uso

Colesterol Total Cepa

Método

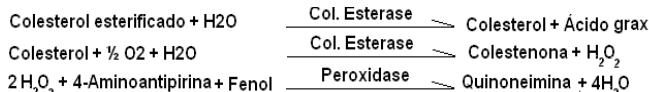
Oxidase/ Peroxidase - Enzimático Colorimétrico.

Finalidade

Kit para determinação do colesterol em amostras de soro ou plasma.

Princípio do método

A determinação do colesterol por métodos enzimáticos combina a elevada especificidade da ação enzimática com a simplicidade operacional envolvida. Os ésteres do colesterol da amostra são hidrolisados pela colesterol esterase produzindo colesterol livre. Este, em presença da colesterol oxidase e de oxigênio, produz peróxido de hidrogênio, que pela ação da peroxidase em presença de um reagente fenólico, (fenol) e 4-aminoantipirina produz um composto corado (quinoneimina) com máximo de absorção em 500 nm. A cor formada é proporcional à concentração do colesterol presente na amostra.



Significado clínico

O colesterol total compreende todas as formas de colesterol encontradas na lipoproteínas. É predominantemente composto por lipoproteína de baixa densidade (LDL) e em pequena parte por lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). Existe forte associação entre os níveis aumentados de colesterol e o desenvolvimento de doenças aterosclerótica. É usado para avaliar risco de doenças aterosclerótica, como rastreamento para hiperlipidemias primárias e secundárias e para monitorizar tratamento. Pode ter seus valores diminuídos em 24-48 horas após o infarto agudo do miocárdio ou outras situações de estresse agudo.

Composição dos reagentes

- Reagente Enzimático

Pipes.....	35 U/mL
Colato de sódio	0,5 mmol/L
Fenol	28 mmol/L
Colesterol esterase	>0,2 mmol/L
Colesterol oxidase	>0,1 mmol/L
Peroxidase	>0,8 mmol/L
4-aminoantipirina	0,5 mmol/L

- Padrão

Colesterol	200 mg/dL
------------------	-----------

Apresentação

Código	Reag. Enzimático	Padrão
0009	2x100 mL	1x3 mL
0024	2x250 mL	1x3 mL
0029	1x100 mL	1x1,5 mL

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece 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 a 8°C.

Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Não utilizar os reativos nas condições abaixo:

Reagente Enzimático: Presença de partículas, turbidez ou absorbância do branco, contra água destilada, maior que 0,150 D.O a 500 nm (cubeta de 1cm).
Padrão: Presença de partículas ou turbidez.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria
- Cronômetro
- Espectrofotômetro
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis
- Vidraria

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Amostra biológica

- Soro ou plasma.

O colesterol em soro ou plasma é estável durante 7 dias quando mantido entre 2 a 8°C. Anticoagulantes como EDTA, oxalato, fluoreto ou heparina não interferem. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de esgoto.

Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula.

Preparo dos reagentes:

Os reagentes encontram-se prontos para uso.

Dosagem em soro ou plasma:

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
2. Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Amostra	-	10µL	-
Padrão	-	-	10µL
Reagente Enzimático	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37°C durante 5 minutos, ou 10 minutos à temperatura ambiente;

4. Determinar as absorbâncias do padrão e da amostra em 500 nm, acertando o zero com o branco. A cor formada é estável por 2 horas.

Cálculos

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{200}{(\text{Abs. do Padrão})}$$

Colesterol Total (mg/dL)=Absorbância da amostra × Fator de calibração

Exemplo:

Concentração do padrão: 200 mg/dL

Absorbância do padrão: 0,280 D.O

Absorbância da amostra: 0,210 D.O

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{200}{(0,280)} = 714 \quad \text{Amostra (mg/dL)} = 714 \times 0,210 = 149,9$$

Unidades SI: Colesterol (mmol/L) = Colesterol (mg/dL) × 0,0259

Linearidade

A reação é linear até 1000 mg/dL (26 mmol/L). Para valores acima de 1000 mg/dL, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição empregado.

Valores de referência

Soro ou plasma

Idade > 20 anos

Desejável	< 200 mg/dL
Risco Moderado	200-239 mg/dL
Alto Risco	≥ 240mg/dL

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia (Sup.III, 11/2001)

Idade 2-19 anos

Desejável	< 170 mg/dL
Risco Moderado	170-199 mg/dL
Alto Risco	≥ 200mg/dL

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia (Sup.III, 11/2001)

*Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de referência.

Controle de 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.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação: 101,9%.

Especificidade analítica: a determinação do colesterol empregando as enzimas colesterol esterase e colesterol oxidase constitui o método mais específico disponível atualmente.

Sensibilidade analítica: O método é sensível a partir de valores de 0,3 mg/dL de colesterol na amostra.

Repetitividade

Concentração média	n	CV
121 mg/dL	20	1,1
257 mg/dL	20	0,9

Reprodutibilidade

Concentração média	n	CV
121 mg/dL	25	1,9
257 mg/dL	25	0,9

Interferentes

Ácido ascórbico (0,3 mmol/L), hemoglobina (300 mg/dL), bilirrubina (0,25 mmol/L) interferem. A lipemia não afeta os resultados.

Referências bibliográficas

- ALLAIN, C. A. et al. Clin Chem. 20:470, 1974
- RICHMOND, W.: Clin Chem. 19: 1350, 1973
- SVENSSON L, et al. Scand J Clin Lab Invest 1982; 42:99-105

Apresentação

- Cod.: 0009 – Número de testes: 200
- Cod.: 0024 – Número de testes: 500
- Cod.: 0029 – Número de testes: 100

Automação

Os reagentes podem ser utilizados em analisadores automáticos. Vide programação no verso ou solicite informações ao seu distribuidor.

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda
Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120
Resp. Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

☎(31) 3507 0707

✉ sac@mbiolog.com.br

Parâmetros para programação**COBAS MIRA / COBAS MIRA PLUS**

GENERAL	
MEASUREMENT MODE	ABSORB
REACTION MODE	R-S (1)
CALIBRATION MODE	**CALIBRATOR (2)
REAGENT BLANK	REAG/DIL (2)
CLEANER	NO (1)
WAVELENGTH	500 nm (3)
DECIMAL POSITION	0
UNIT	mg/dL (12)
ANALYSIS	
POST. DIL FACTOR	3
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	2
VOLUME	2 µL
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	30 µL
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	200 µL
CALCULATION	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	INCREASE (1)
CHECK	ON (1)
CONVERSION FACTOR /OFFSET	1/0
TEST RANGE LOW	0,3
HIGH	1000
NORMAL RANGE LOW	200
HIGH	240
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	ENDPOINT (1)
READING FIRST	1
LAST	8
CALIBRATION	
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAGENTE RANGE LOW	-0,20
HIGH	0,20
BLANK RANGE LOW	NO - SPACE
HIGH	NO - SPACE
STANDARD POS	*
STD - 1	*

* Parâmetros inserido pelo usuário.

** Cobas Mira Plus = Slope AVG

EXPRESS 550/550 PLUS

TEST NAME: Colesterol Total

TEST: Col. total

TEST BAR CODE: *

TEST TYPE: END POINT

CURVE TYPE: BLAN. LINEAR

UNITS: mg/dL

Nº OF DECIMAL PLACE: 1

PRIMARY WAVELENGHT: 510

SECONDARY WAVELENGHT: 600

READ TIME / INTERVAL: 10

SAMPLE BLANK: NO

FACTOR:

CALIBRATION INTERVAL: *

Nº OF REPLICATES: 2

Nº OF CALIBRATOR: 2

HIGH BLANK A LIMIT: 0,350

LOW A LIMIT: -0,100

HIGH A LIMIT: 2,000

LOW NORMAL: 200

HIGH NORMAL: 240

LINEARITY LIMIT: 500

CURVE S.D. LIMIT: 10

SAMPLE VOLUME: 3

TEST: Colesterol

SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *

PREDILUTION RATIO: 1

REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE: *

Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	LAG TIME	BT
REAGENT 1	300	TG1A	-	240 *

* Parâmetros inserido pelo usuário.

BIOPLUS 2000 / 200

MODO	P.F	P1	*
WLI	500	UNDIDAD	mg/dL
WL2	-	DECIMALS	1
BLANK?	SIM	LIM LIN MIN	0
BLANK- AMOS – PAD?	NÃO/NÃO	LIM LIN MAX	
CUB FLUXO ?	SIM	ABS REAT MIN	-0,010
TEMP?	37 °C	ABS REAT MAX	0,400
VOL ASP	800	ABS PAD MIN	0,010
RETARDO	3	ABS PAD MAX	1,200
PADRÃO	SIM	VR/VN MIN	*
PAD (QUANT)	ÚNICA	VR/VN MAX	*

* Parâmetros inserido pelo usuário.

Verificar os parâmetros das programações utilizando soros controles comerciais.