

# Colesterol HDL Cepa – Precipitação

## Método

Fosfotungstato/Mg

## Finalidade

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

## Princípio do método

O fosfotungstato e íons magnésio precipitam os quilomicrons, as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL) sem alterar a solubilidade das lipoproteínas de alta densidade (HDL) presentes na amostra. Após centrifugação, recolhe-se o líquido sobrenadante, que contém a fração HDL, cujo colesterol (HDL) é determinado enzimaticamente.

## Reagentes fornecidos

### • Cod.: 0008

1. Precipitante: Fosfotungstato 0,4 mmol/L, cloreto de magnésio 20 mmol/L (1x50 mL).

2. Padrão: Colesterol HDL 15 mg/dL (1x2 mL).

### • Cod.: 0039

1. Precipitante: Fosfotungstato 0,4 mmol/L, cloreto de magnésio 20 mmol/L (1x25 mL).

2. Padrão: Colesterol HDL 15 mg/dL (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.

## 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 HDL em soro ou plasma é estável durante 7 dias quando mantido entre 2 a 8°C. Anticoagulantes como heparina, EDTA, oxalato ou fluoreto não interferem.

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação de 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

### Precipitação em soro ou plasma:

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

Amostra	100µL
Precipitante	250µL

3. Agitar vigorosamente por trinta segundos e incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos;
4. Centrifugar durante 10 minutos a pelo menos 4.000 rpm;
5. Recolher o sobrenadante, em no máximo 15 minutos após a centrifugação; este procedimento deve ser realizado com o máximo cuidado, de forma a não ressuspender o precipitado.

**Obs.:** O sobrenadante deve ser completamente límpido. Havendo persistência de turbidez, verifica-se uma sedimentação incompleta do precipitado; neste caso, adicionar mais 250µL do reagente precipitante no tubo correspondente à amostra, homogeneizar bem e centrifugar novamente conforme item 3. (**Utilizar o fator de 1,7 para corrigir a diluição anteriormente realizada.**) Se a turbidez da amostra persistir mesmo após a realização do procedimento anterior, esta não deve ser utilizada para a determinação do colesterol HDL.

## Dosagem do colesterol HDL (sobrenadante):

1. Permitir que o reagente do kit Colesterol Total Cepa atinja a temperatura ambiente;
2. Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

Água destilada	Branco	Padrão	Amostra
Padrão colesterol HDL	50 µL	-	-
Sobrenadante	-	50 µL	-
Reag. de colesterol	500 µL	500 µL	500 µL

3. Homogeneizar bem e incubar a 37°C durante 10 minutos, ou 30 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 30 minutos.

## Cálculos

Considerando que o fator de diluição da amostra na precipitação é 3,5 e que a concentração do padrão é de 15 mg/dL, deduz-se o seguinte cálculo para a concentração do padrão:  $3,5 \times 15 = 52,5$ .

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{52,5}{(\text{Abs. do Padrão})}$$

Colesterol HDL (mg/dL) = Absorbância da amostra × Fator de calibração  
Unidades SI: Colesterol HDL (mmol/L) = Colesterol HDL (mg/dL) × 0,0259

Cálculo das frações LDL e VLDL através da equação de Friedewald (apenas para triglicérides abaixo de 400 mg/dL).

$$\text{Colesterol VLDL} = \frac{\text{Triglicérides}}{5}$$

$$\text{Colesterol LDL} = \text{Colesterol Total} - (\text{Colesterol HDL} + \text{Colesterol VLDL})$$

## Linearidade

A reação é linear até 150 mg/dL (5mmol/L).

## Valores de referência

### • Soro ou Plasma:

Homens : 30 a 60 mg/dL = 0,78 a 1,55 mmol/L.\*

Mulheres : 40 a 70 mg/dL = 1,03 a 1,81 µmol/L.\*

\*Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores 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: 101,2%.

Coeficiente de variação intra-ensaio (repetitividade): 1,34% para valores dentro da faixa de referência e 0,91% para valores elevados.

Coeficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade): 3,03% para valores dentro da faixa de referência e 3,95% para valores elevados.

Especificidade analítica: a precipitação das frações LDL e VLDL do colesterol através do fosfotungstato e íons magnésio e posterior determinação do colesterol empregando as enzimas colesterol esterase e colesterol oxidase constitui o método mais específico disponível atualmente.

## Interferentes

Ácido ascórbico (0,1 mmol/L), hemoglobina (1g/L) e bilirrubina (10mg/dL) interferem na dosagem.

## Referências bibliográficas

1. BURSTEIN M, Scholnick HR, Morfin R. J Lipid Res 1970; 11:583
2. GROVE TH. Clin Chem 1979; 25:560

## Apresentação

Cod.: 0008 - Número de testes: 200

Cod.: 0039 - 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) 3394-9005 (Ramal: 211)

[sac@mbiolog.com.br](mailto:sac@mbiolog.com.br)

## COBAS MIRA/ PLUS®

<b>GENERAL</b>	
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 (mg/dL)
UNIT	12 (mg/dL)
<b>ANALYSIS</b>	
POST. DIL FACTOR	3
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	2
VOLUME	10 µL
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	30 µL
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	200 µL
<b>CALCULATION</b>	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	INCREASE - 1
CHECK	ON - 1
CONVERSION FACTOR	1
OFFSET / TEST RANGE	0 / 0
	HIGH 200 mg/dL
NORMAL RANGE LOW	30
	HIGH 70
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	ENDPOINT -1
READING FIRST	1
LAST	8
<b>CALIBRATION</b>	
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAGENTE RANGE LOW	NO - SPACE
	HIGH NO - SPACE
BLANK RANGE LOW	NO - SPACE
	HIGH NO - SPACE
STANDARD POS	IPU*
STD - 1	IPU**

IPU\*: Insira a posição do calibrador no equipamento.

IPU\*\*: Insira a concentração do calibrador no equipamento.

Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 52,5 mg/dL).

Para "COBAS MIRA PLUS", substituir a opção "CALIBRATOR" por "SLOP AVG".

## EXPRESS 550/PLUS®

TEST NAME: HDL	TEST: HDL
TEST BAR CODE: IPU*	
TEST TYPE: END POINT	CURVE TYPE: BLAN. LINEAR
UNITS: mg/dL	Nº OF DECIMAL PLACE: 0
PRIMARY WAVELENGHT: 510	SECONDARY WAVELENGHT: 600
READ TIME / INTERVAL: 10	SAMPLE BLANK: NO
FACTOR:	
CALIBRATION INTERVAL: 180 h	Nº OF REPLICATES: 2
Nº OF CALIBRATOR: IPU*	
LOW BLANK A LIMIT: -0.100	HIGH BLANK A LIMIT: 0.500
LOW A LIMIT: -0,100	HIGH A LIMIT: 2.000
LOW NORMAL: 30	HIGH NORMAL: 70
LINEARITY LIMIT: 500	CURVE S.D. LIMIT: 10
SAMPLE VOLUME: 30 µL	TEST: HDL
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *	PREDILUTION RATIO: 1
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE: *	
REAGENT DILUENT: VOL. RAG. BD DIL LAG TIME BT	
REAGENT 1: 300	240 *
IPU: Inserido Pelo Usuário	
*: Entre com o tipo de frasco utilizado. Plástico ou Vidro	

Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 52,5 mg/dL).

## RA-50®

TEMPERATURA	37 °C
VOLUME DA AMOSTRA	50 µL
VOLUME DO REAGENTE	500 µL
CONCENTRAÇÃO DO PADRÃO	IPU*
TIPO DE REAÇÃO	P.F / PADRÃO / BRANCO DE REAG.
UNIDADES	mg/dL
COMPRIMENTO DE ONDA	500 nm
INCLINAÇÃO DA REAÇÃO	CRESCENTE
LINEARIDADE	500 mg/dL
RET. VALOR DO BRANCO	SIM
PRECISÃO DO RESULTADO	0,1 mg/dL
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	500 µL

Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 52,5 mg/dL).

A opção "PADRÃO" pode ser substituída pela opção "FATOR". Porém, este deve ser calculado previamente.

## RA-100®

TEST Nº	HDL
TEST NAME	HDL
UNITS	mg/dL
LOW NORMAL	30
HIGH NORMAL	70

FACTOR	NO
STAND CONC	IPU*
TYPE	1
WAVELENGTH	510
SAMPLE VOLUME	2,5

SAMPLE PRIME VOLUME

SAMPLE FLUSH VOLUME

REAG VOLUME

REAG PRIME VOLUME

REAG FLUSH VOLUME

INCUBATION TIME

REAG. ABS LOW

REAG. ABS HIGH

REACTIVO ABS. LOW

REACTIVO ABS. HIGH

MAX LIN RSLT

TEMPERATURA

IPU\* Inserido Pelo Usuário

Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 52,5 mg/dL, após sua precipitação).

## BTS-310®

LOCALIDAD	*
NOMBRE TECNICA	HDL
UNIDADES	0
MODO DE CÁLCULO	PF
MODO DE LECTURA	MONO
FILTRO REFERENCIA	-
FILTRO LECTURA	510
FATOR	-
TIEMPO ESTBILIDAD	1
TIEMPO INCUBACION	-
TIEMPO INTERVALO	-
NÚMERO DE INTERVALOS	-
VOLUME DE ASPIRACAO	500
TIPO DE REACION	Crescente
ESTANDAR	52,5 (Padrão do kit)
Nº ESTANDARTES	-
DUP. ESTANDARTES	-
DUP. MUESTRAS	-
ESCALAS ABS	-
CONC.	-
FACTOR DILUCION	-
TEMPERATURA	37°C

## ABBOT VP®

NAME INDEX – TES NAME	48 (HDL)
TEMPERATURE	37°C
FILTER ID CODE	13 (500/600)
UNITS	0,5 (mg/dL)
DILUTION 1:	26 ( 1:26)
REV. TIME	2
AUX. DISP	NO
FRR	NO
REACTION UP	YES
STANDARD	YES
LOW STANDARD	52,5 (Padrão do kit)
HIGH STANDARD	52,5 (Padrão do kit)
REAG. BLANK	YES
END. POINT	YES
BGN PRT REVOLUTION	3
PRT REVOLUTION	1
INITIAL REAGENT AD	0,1
UP LIMIT	YES
MAX ABSB LIMIT	1,2

## BIO 2000 & LABQUEST®

MODO	P.F	P1	52,5
WLI	505	UNDIDAD	mg/dL
WL2		DECIMALS	1
BLANK?	SIM	LIM LIN MIN	0
BLANK- AMOS – PAD?	NÃO/NÃO	LIM LIN MAX	500
CUB FLUXO ?	SIM	ABS REAT MIN	-0,01
TEMP?	37 °C	ABS REAT MAX	0,5
VOL ASP	500	ABS PAD MIN	0,1
RETARDO	3	ABS PAD MAX	0,65
PADRÃO	SIM	VR/VN MIN	30
PAD (QUANT)	ÚNICA	VR/VN MAX	70

Pode-se utilizar o Padrão do kit para calibração (Valor do padrão: 52,5 mg/dL).