

# Colesterol HDL • Fosfotungstato

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

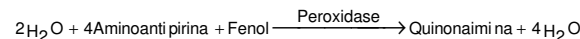
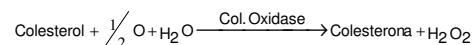
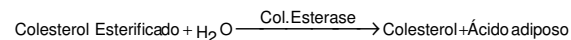
**Somente para uso diagnóstico *in vitro***

## Significado Clínico

As HDL são pequenas partículas constituídas por cerca de 50% de proteína, 20% de colesterol, 30% de fosfolipídio e traços de triglicérides. É dividida em duas classes principais, HDL 2 e HDL 3, que diferem em tamanho, densidade e composição. Cumprem o importante papel de levar o colesterol diretamente até o fígado ou transferindo ésteres de colesterol para outras lipoproteínas, especialmente as VLDL. É atribuído à fração HDL 2 o papel de proteção do desenvolvimento da aterosclerose <sup>1</sup>.

## Metodologia e princípio do teste

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.



## Composição dos reagentes

**R1 Precipitante:** Fosfotungstato 0,4 mmol/L, cloreto de magnésio 20 mmol/L. **R2 Padrão:** Colesterol HDL 15 mg/dL.

## Apresentações

Código	R1	R2	Testes
0039	1x25 mL	1x1,5 mL	100

O número de testes em equipamentos automatizados dependerá do protocolo de automação utilizado.

## Materiais necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada;
- Banho maria;

- Cronômetro;
- Espectrofotômetro;
- Pipetas manuais ou automáticas;
- Ponteiras descartáveis;
- Vidraria.

## Armazenamento, transporte e validade

Armazenar os reagentes entre 2-8 °C em sua embalagem original.

Os produtos poderão ser transportados, por até 48 horas, entre 2-30 °C. A data de validade se encontra no rótulo do produto.

## Precauções e cuidados especiais

- 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/plasma

O analito é estável por 7 dias entre 2 a 8 °C. Anticoagulantes como heparina, EDTA, oxalato ou fluoreto não interferem.

### Nota

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.

## Interferentes pré-analíticos

Hemoglobina (>5,0 g/L) e bilirrubina (>10 mg/dL) podem interferir. Muitos medicamentos e substâncias atuam na diminuição e no aumento das concentrações séricas do colesterol HDL.

## Procedimento

Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente.

**Passo 1** Pipetar, em um tubo de ensaio, como a seguir:

<b>Amostra</b>	100 µL
<b>Precipitante</b>	250 µL

**Passo 2** Agitar vigorosamente por trinta segundos e incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos;

**Passo 3** Centrifugar durante 10 minutos a pelo menos 4.000 rpm;

**Passo 4** 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.

### Nota

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. **(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.

**Passo 5** Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
<b>Água Destilada</b>	50 µL	-	-
<b>Padrão HDL</b>	-	50 µL	-
<b>Sobrenadante da amostra</b>	-	-	50 µL
<b>*Reagente Enzimático</b>	500 µL	500 µL	500 µL

\* Reagente enzimático do kit Colesterol Total Cepa.

**Passo 6** Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37°C durante 10 minutos, ou 30 minutos à temperatura ambiente;

**Passo 7** 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:  $3,5 \times 15 = 52,5$ .

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

$$\text{Colesterol HDL (mg/dL)} = \text{Abs. da amostra} \times \text{FC}$$

### Exemplo:

Concentração do padrão: 52,5 mg/dL

Absorbância do padrão: 0,120 D.O

Absorbância da amostra: 0,148 D.O

$$\text{Fator de Calibração (FC)} = \frac{52,5}{0,120}$$

$$\text{Col. HDL (mg/dL)} = 0,148 \times 437,5 = 64,7 \text{ mg/dL}$$

### Nota

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

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

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

### Nota

Para converter os valores de mg/dL para mmol/L, multiplicar os resultados por 0,026.

### Valores de referência

#### Soro/Plasma (mg/dL)

Os valores discriminados avaliam o risco de doenças coronárias.

Alto risco	Menor ou igual 35
Risco Intermediário	Entre 36-59
Baixo risco	Maior que 60

### Nota

Estes valores são 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. Preferencialmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

### Características de desempenho do produto

**Sensibilidade analítica:** A sensibilidade do método é de 0,3 mg/dL (0,008 mmol/L).

**Limite de Linearidade:** Os resultados são lineares até 150 mg/dL (3,9 mmol/L). Para valores maiores que 150 mg/dL, diluir a amostra 1:5 com NaCl 0,85% (150 mmol/L) e repetir o ensaio. Multiplicar o resultado encontrado pelo fator de diluição cinco (5).

**Estudos comparativos:** Este produto não apresentou variação sistêmica significativa quando comparado com produtos de mesma metodologia.

#### Repetitividade e Reprodutibilidade:

Repetitividade	Concentração média	n	CV%
	30 mg/dL	20	3,3
	55 mg/dL	20	2,0
Reprodutibilidade	Concentração média	n	CV%
	30 mg/dL	25	3,3
	55 mg/dL	25	2,0

### Termo de garantia

A MBIolog Diagnósticos Ltda garante o desempenho deste produto até a data de expiração indicada no rótulo, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções de uso forem seguidas corretamente.

### Meio ambiente

As caixas e bulas podem ser encaminhados para coleta seletiva e recicladas, desde que não contenha contaminações químicas e/ou biológicas. Preserve o meio ambiente.

### Referências

1. Ciriades, Pierre G. Manual de Patologia Clínica. São Paulo. Editora Atheneu, 2009.
2. Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by oxidase system. Analyst 1972; 27:142-145.
3. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the national Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung and Blood Institute, 2001.
4. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
5. Lima A et al., 1992. Métodos de Laboratório aplicado a clínica. 7ª Ed. Editora Guanabara.
6. Miller, O e Gonçalves, R., 1995. Laboratório para o Clínico. 8ª Ed. Editora ATHENEU
7. MBIolog: Arquivos 2010.

### SAC – SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE

(31) 3507 0707

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

REV.: 03 – 03/05/2011

#### Fabricado por: MBIolog Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG  
CEP: 32.372-120 - CNPJ: 03.590.360/0001 – 89  
Resp. Técnico: Fabrício G de Brito CRF-MG 9587  
Empresa Certificada: BPFC - ISO 9001  
RMS: 80047580132