

MÉTODO

Enzimático-Colorimétrico (Trinder).

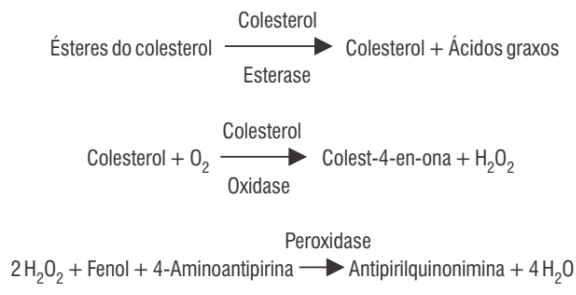
FINALIDADE

Reagentes para determinação quantitativa do colesterol total no soro.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Os ésteres do colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase (CHE) formando colesterol livre que após oxidação pela colesterol oxidase (CHOD) forma peróxido de hidrogênio. Este, reagindo com o fenol e 4-aminoantipirina, através de copulação oxidativa catalisada pela peroxidase (POD), produz uma quinonimina de cor vermelha. A absorvância do complexo formado, medida em 500 nm, é diretamente proporcional à concentração de colesterol da amostra.



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 esteróides 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.

Além do colesterol absorvido a cada dia pelo tubo gastrointestinal, que é denominado colesterol exógeno, grande quantidade designada como colesterol endógeno é formada no fígado e outros tecidos.

A aterosclerose caracteriza-se pelo acúmulo de lipídeos dentro e ao redor das células na íntima das artérias e está associada com a proliferação celular e fibrosa provocando o estreitamento do lúmen do vaso.

O desenvolvimento da aterosclerose está ativa em todos os indivíduos e permanece sem qualquer manifestação por décadas. Subitamente pode-se manifestar por dor torácica, infarto agudo do miocárdio ou morte súbita.

Diversos estudos epidemiológicos e experimentais comprovam uma correlação positiva entre os níveis do colesterol, mais precisamente do colesterol LDL e o risco de doença arterial coronariana (DAC).

Ao contrário, os níveis de colesterol HDL são inversamente proporcionais ao risco de DAC.

Valores aumentados de colesterol são encontrados na nefrose, no hipotireoidismo, nas doenças colostáticas do fígado e nas hiperlipoproteinemias dos tipos IIa, IIb e III.

Níveis diminuídos são encontrados no hipertireoidismo, doenças consuntivas e desnutrição crônica.

O nível de colesterol sérico, juntamente com a hipertensão e o fumo, constituem fatores de risco de aterosclerose e doença arterial coronariana (DAC).

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia enzimática colorimétrica de ponto final, rápida e direta para dosagem do colesterol total facilmente adaptável em analisadores automáticos e semi-automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, prontos para uso.
- O Reagente de Cor possui agente clarificador de soro que elimina interferências positivas produzidas por valores de triglicérides até 2600 mg/dL.
- A metodologia permite obter resultados exatos e precisos se for executada conforme descrita nesta Instrução de Uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

1. **Padrão** - Contém colesterol 200 mg/dL, estabilizador, surfactante e conservante.
2. **Reagente de Cor** - Contém tampão 100 mmol/L, pH 7,0; fenol 24 mmol/L; colato de sódio 0,005 - 0,05%; azida sódica 14,6 mmol/L; 4-aminoantipirina 300 - 500 mol/L; colesterol esterase 250 - 1000 U/L; colesterol oxidase 250 - 1000 U/L, peroxidase 250 - 1000 U/L, cofator, estabilizadores e surfactantes.

ESTABILIDADE

Para preservar o desempenho, o reagente de cor deve permanecer fora da geladeira somente o tempo necessário para se obter o volume a ser utilizado. Evitar exposição à luz solar direta.

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evite a contaminação durante o uso.

Sinais de Deterioração dos Reagentes

1. Presença de partículas e turbidez indicam deterioração dos reagentes.
2. A absorvância do Reagente de Cor lida contra a água em 500 nm deverá ser inferior a 0,300 durante toda a sua utilização ou até a expiração da data de validade do mesmo.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura entre 490 e 510 nm);
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria a 37 °C;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com os olhos, pele e mucosa. Não aspirar ou ingerir.
- Não pipetar diretamente do frasco do Reagente de Cor (2) para evitar contaminação.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS

A postura durante a coleta da amostra deve ser padronizada porque pode ter efeitos significativos nos resultados. Se as amostras são obtidas na posição sentada, deve-se padronizar para que o indivíduo esteja sentado durante 15 minutos e não mais do que 30 minutos.

O garroteamento não deve exceder a 1 minuto para não produzir hemoconcentração, que pode aumentar os valores do colesterol em 5% após 2 minutos e 10% a 15% após 5 minutos. Portanto, é muito importante que os laboratórios padronizem o procedimento da coleta da amostra.

Níveis elevados de ascorbato (vitamina C) produzem interferências negativas por competição com o cromógeno na reação da peroxidase.

Se houver suspeita da presença de ácido ascórbico, deixar o soro em repouso durante 90 minutos antes de iniciar a dosagem para não obter resultados falsamente diminuídos.

AMOSTRA

SORO.

Anticoagulantes como citrato, oxalato ou EDTA produzem resultados falsamente diminuídos.

O analito é estável por 7 dias entre 2-8 °C e 6 meses a 20 °C negativos.

Misturar bem as amostras lipêmicas antes de iniciar a dosagem.

Não utilizar amostras fortemente hemolisadas.

Como o volume de amostra é pequeno, deve-se pipetar com cuidado para minimizar a imprecisão do sistema de medição.

De acordo com o Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico não há obrigatoriedade de realização de jejum de doze horas pelo paciente para a determinação de lipídeos. As concentrações de colesterol total, HDL-C, não-HDL-C e LDL-C não diferem significativamente se realizados em estado pós - prandial ou em jejum.

Nota: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INTERFERÊNCIAS

A bilirrubina até 5 mg/dL, lipemia (triglicérides até 2600 mg/dL), hemólise (hemoglobina até 180 mg/dL) não produzem interferências significativas.

Valores de bilirrubina entre 5 e 38 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos proporcionais à concentração da bilirrubina.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A- Condições de Reação

Leitura: Comprimento de onda 500 nm

Medida: Contra o Branco

Tipo de reação: Ponto final

B- Técnica de Análise

1. Identificar 3 tubos de ensaio com "Branco", "Teste" e "Padrão" e proceder:

Tubos	Branco	Teste	Padrão
Soro	----	0,01 mL	----
Padrão (1)	----	----	0,01 mL
Reagente de Cor (2)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogeneizar e incubar em banho-maria a 37 °C por 10 minutos

O nível de água do banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos.

3. Fazer as leituras fotométricas do Padrão (AP) e do Teste (AT), zerando o aparelho com o Branco em 500 nm (490 a 510 nm).

A cor é estável durante 1 hora.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL.

Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado.

Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculo se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{\text{Absorvância do Teste}}{\text{Absorvância do Padrão}} \times 200$$

Exemplo:

Absorvância do Teste = 0,290

Absorvância do Padrão = 0,345

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{0,290}{0,345} \times 200 = 168$$

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, calcular a concentração do teste através do Fator de Calibração (FC).

CP = Concentração do Padrão = 200 mg/dL

AP = Absorvância do Padrão

CT = Concentração do Teste

AT = Absorvância do Teste

FC = CP ÷ AP

CT (mg/dL) = FC x AT

Exemplo:

CP = 200 mg/dL

AP = 0,347

AT = 0,301

FC = CP ÷ AP = 200 ÷ 0,347 = 576

CT (mg/dL) = FC x AT = 576 x 0,301 = 173 mg/dL

Atenção

- Esta técnica de dosagem é adequada para fotômetros cujo volume mínimo de solução para a leitura é igual ou menor do que 1000 µL.

- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Calibração

Rastreabilidade do sistema

O padrão é rastreável ao (SRM) 911 do Standard Reference Material National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibrações manuais

Obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes ou quando o controle interno da qualidade indicar.

Sistemas automáticos

Branco de reagentes: água deionizada ou destilada, ou solução de cloreto de sódio 150 mmol/L (0,85 %);

Padrões: usar calibradores proteicos.

Intervalo de calibrações

Deve-se recalibrar o sistema nas seguintes situações:

Calibração de 2 ou 3 pontos ao mudar de lote;

Calibração de 2 ou 3 pontos quando o controle interno da qualidade indicar.

Conversão de Unidades

Unidades Convencionais (mg/dL) x 0,026 = Unidades SI (mmol/L)

VALORES DESEJÁVEIS OU RECOMENDADOS

Os valores referenciais e de alvo para perfil lipídico, para adultos maiores de 20 anos, são apresentados de acordo com o estado metabólico do paciente que precede a coleta da amostra, sem jejum e com jejum de 12 horas.

Valores referenciais e de alvo terapêutico conforme avaliação de risco cardiovascular estimado pelo médico solicitante do perfil lipídico para adultos >20 anos.

Adultos

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)	Categoria Referencial
Colesterol Total*	< 190	< 190	Desejável
HDL- C	> 40	> 40	Desejável

CT* >310 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar (HF).

Crianças e Adolescentes

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)
Colesterol Total*	< 170	< 170

CT* >230 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar (HF).

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.

O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

A calibração com o Padrão aquoso pode causar desvios em alguns analisadores. Nestes casos, recomenda-se calibrar com calibrador protéico - Calibrador - Cat. 410 - Gold Analisa.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e/ou desvios da calibração. Sugere-se procurar atender como limites máximos de controle as especificações propostas por NCEP para coeficiente de variação ≤3%, erro sistemático (bias) ≤±3% e erro total ≤9%.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO¹⁰

Linearidade

A reação é linear até 500 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e realizar uma nova determinação. Multiplicar o valor obtido pelo fator de diluição empregado.

Diluir a amostra de tal modo que o valor encontrado se situe entre 150 e 300 mg/dL. Sugerimos a verificação da linearidade metodológica e fotométrica, no mínimo semestralmente, utilizando amostras com valores até 500 mg/dL.

Exatidão

O método proposto foi comparado com um método similar utilizando 20 amostras com valores situados entre 112 e 357 mg/dL. A comparação resultou na equação da regressão: $y = 11,93 + 0,984x$ e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,996.

O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado na concentração de 250 mg/dL foi igual a 3,17%. Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes ambulatoriais, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Repetitividade

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações sucessivas de colesterol utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram:

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	71	1,01	1,4
Amostra 2	20	115	2,69	2,3

Reprodutibilidade

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações de colesterol em dias diferentes utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram:

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	71	1,87	2,6
Amostra 2	20	115	3,03	2,6

Sensibilidade metodológica

Uma amostra proteica não contendo colesterol foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio tendo sido encontrado um valor igual a 1,80 mg/dL, equivalente a média de 10 ensaios mais três desvios padrão.

Efeitos da diluição da matriz

Dois amostras com valores iguais a 330 e 400 mg/dL foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85 %). Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 8 encontraram-se recuperações entre 99 e 113 %.

Limite de Detecção

O limite de detecção é igual a 0,3 mg/dL, equivalente a três desvios padrão (DP) obtidos a partir de um ensaio com vinte medições (20) da absorbância do branco da reação em espectrofotômetro no comprimento de onda de 500 nm.

Comparação de Métodos

O produto foi comparado com outro similar disponível no mercado através da análise de 146 amostras de soro humano com valores desconhecidos. Os resultados analisados por modelos estatísticos demonstraram que não há diferença significativa em um intervalo de confiança de 95% com uma equação de regressão linear onde $y = 1,013x - 2$.

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.
2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.
3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, amins e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alain CA, Poon LS, Cahn CSG, Richmond W, Fu PC. Clin Chem 1974;20:470.
2. Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, 3 ed, Verlag Chemie:Weinhein, 1984;8:141-8.
3. Bull Org Mond Santé. 1970;43:891
4. Fredrickson DS, Levy RJ, Lee RS. New Engl J Med 1967; 276:24, 94, 148, 215, 276.
5. Good NE, Winger GD, Winter W, Connolly TN, Izawa S, Singh RMM. Biochemistry 1966;5:467.
6. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH. Handbook of lipoprotein testing. AACC Press:Washington, 1997:75-97.
7. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostics Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
8. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
9. Leite PF, Martinez TLR, Halpern A, Cendoroglo MS, Novazzi JP, Fonseca FAH, Dias JCA. Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Loyola, 1994. P.56.
10. Executive Summary of the Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486-97.
11. Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico, 2016.
12. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al; European Atherosclerosis Society (EAS) and the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) joint consensus initiative. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points-a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Eur. Heart J. 2016;37(25):1944-58
13. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230064

Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020

Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico in vitro		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 07/22

MÉTODO

Enzimático-Colorimétrico (Trinder).

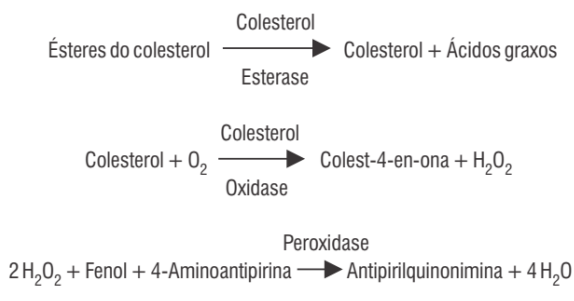
META

Reactivos para la determinación cuantitativa del colesterol sérico total.
Sólo para uso diagnóstico in vitro.

RAZÓN FUNDAMENTAL

Los ésteres de colesterol son hidrolizados por la colesterol esterasa (CHE) para formar colesterol libre, que después de la oxidación por la colesterol oxidasa (CHOD) forma peróxido de hidrógeno. Este, al reaccionar con fenol y 4-aminoantipirina, mediante acoplamiento oxidativo catalizado por peroxidasa (POD), produce una quinonimina de color rojo.

La absorbancia del complejo formado, medida a 500 nm, es directamente proporcional a la concentración de colesterol en la muestra.



SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

El colesterol es el principal esteroide del organismo, estando presente en todas las células como componente estructural de las membranas y lipoproteínas (HDL, VLDL y principalmente LDL). También es el precursor en la formación de hormonas esteroideas por parte de las gónadas y la corteza suprarrenal.

Alrededor del 70 al 75% del colesterol plasmático está en forma de éster y del 25 al 30% existe como colesterol libre.

Además del colesterol absorbido cada día por el tracto gastrointestinal, que se denomina colesterol exógeno, en el hígado y otros tejidos se forma una gran cantidad denominada colesterol endógeno.

La aterosclerosis se caracteriza por la acumulación de lípidos en y alrededor de las células en la íntima de las arterias y está asociada con la proliferación celular y fibrosa que hace que la luz del vaso se estreche.

El desarrollo de la aterosclerosis está activo en todos los individuos y permanece sin manifestación durante décadas. Puede presentarse repentinamente con dolor torácico, infarto agudo de miocardio o muerte súbita.

Varios estudios epidemiológicos y experimentales muestran una correlación positiva entre los niveles de colesterol, más precisamente el colesterol LDL, y el riesgo de enfermedad arterial coronaria (EAC).

Por el contrario, los niveles de colesterol HDL son inversamente proporcionales al riesgo de EAC.

Los niveles elevados de colesterol se encuentran en nefrosis, hipotiroidismo, enfermedad hepática colestásica e hiperlipoproteinemia tipo IIa, IIb y III.

Los niveles reducidos se encuentran en hipertiroidismo, enfermedades debilitantes y desnutrición crónica.

El nivel de colesterol sérico, junto con la hipertensión y el tabaquismo, constituyen factores de riesgo para la aterosclerosis y la enfermedad arterial coronaria (EAC).

CALIFICACIONES DEL PRODUCTO

- Metodología enzimática colorimétrica de punto final rápida y directa para medir el colesterol total fácilmente adaptable a analizadores automáticos y semiautomáticos.
- El producto emplea reactivos líquidos listos para usar.
- El Color Reagent tiene un agente clarificante sérico que elimina la interferencia positiva que producen los valores de triglicéridos hasta 2600 mg/dL.
- La metodología permite obtener resultados exactos y precisos si se realiza como se describe en estas Instrucciones de uso.

IDENTIFICACIÓN DE REACTIVOS

Conservar a 2-8°C.

1. **Estándar** - Contiene 200 mg/dL de colesterol, estabilizador, surfactante y conservante.
2. **Reactivo de color** - Contiene 100 mmol/L de tampón, pH 7,0; fenol 24 mmol/L; 0,005 - 0,05% colato de sodio; azida de sodio 14,6 mmol/L; 4-aminoantipirina 300 - 500 mol/L; colesterol esterasa 250 - 1000 U/L; colesterol oxidasa 250 - 1000 U/L, peroxidasa 250 - 1000 U/L, cofactor, estabilizantes y tensioactivos.

ESTABILIDAD

Para preservar el rendimiento, el reactivo de color debe permanecer fuera del refrigerador solo el tiempo necesario para obtener el volumen a utilizar. Evite la exposición a la luz solar directa.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta y la caja del producto cuando se almacenan a la temperatura recomendada, se sellan herméticamente y se evita la contaminación durante su uso.

Señales de deterioro de los reactivos

- La presencia de partículas y turbidez indican deterioro de los reactivos.
- La absorbancia del Reactivo de Color leída frente al agua a 500 nm debe ser inferior a 0,300 durante todo su uso o hasta su fecha de caducidad.

MATERIALES REQUERIDOS Y NO SUMINISTRADOS

- Espectrofotómetro (lectura entre 490 y 510 nm);
- tubos y pipetas;
- Baño María a 37 °C;
- cronógrafo.

PRECAUCIONES Y PRECAUCIONES ESPECIALES

- Aplique las precauciones de seguridad habituales al manipular reactivos y muestras biológicas.
- Recomendamos el uso de Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico para la realización de la prueba.
- De acuerdo con las instrucciones de bioseguridad, todas las muestras deben manipularse como materiales potencialmente infecciosos.

- Los reactivos contienen azida de sodio como conservante. Evitar el contacto con ojos, piel y mucosas. No aspirar ni ingerir.
- No pipetee directamente de la botella de reactivo de color (2) para evitar la contaminación.
- Deseche los reactivos y las muestras de acuerdo con las reglamentaciones ambientales locales, estatales y federales.

INFLUENCIAS PREANALÍTICAS

La postura durante la recolección de muestras debe estandarizarse porque puede tener efectos significativos en los resultados. Si las muestras se toman en una posición sentada, estandarice para que el sujeto esté sentado durante 15 minutos y no más de 30 minutos.

El torniquete no debe exceder de 1 minuto para no producir hemoconcentración, que puede aumentar los valores de colesterol en un 5% a los 2 minutos y entre un 10% y un 15% a los 5 minutos. Por lo tanto, es muy importante que los laboratorios estandaricen el procedimiento de recolección de muestras.

Los niveles elevados de ascorbato (vitamina C) producen una interferencia negativa al competir con el cromógeno en la reacción de la peroxidasa.

Si se sospecha la presencia de ácido ascórbico, dejar reposar el sérum durante 90 minutos antes de iniciar la dosificación para evitar resultados falsamente disminuidos.

MUESTRA

SUERO.

Los anticoagulantes como el citrato, el oxalato o el EDTA producen resultados falsamente disminuidos.

El analito es estable durante 7 días a 2-8 °C y 6 meses a menos 20 °C.

Mezcle bien las muestras lipémicas antes de iniciar la dosificación.

No utilice muestras muy hemolizadas.

Dado que el volumen de la muestra es pequeño, el pipeteo debe realizarse con cuidado para minimizar la inexactitud del sistema de medición.

De acuerdo con el Consenso Brasileño para la Estandarización de la Determinación Laboral del Perfil Lípido, no existe obligación para el paciente de realizar un ayuno de doce horas para la determinación de lípidos. Las concentraciones de colesterol total, HDL-C, no-HDL-C y LDL-C no difirieron significativamente si se realizaban en estado posprandial o en ayunas.

Nota: Recomendamos que la recolección, preparación, almacenamiento y disposición de muestras biológicas se realice siguiendo las recomendaciones de Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.

Hacemos hincapié en que los errores derivados de la muestra pueden ser mucho mayores que los errores ocurridos durante el procedimiento analítico.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina hasta 5 mg/dL, lipemia (triglicéridos hasta 2600 mg/dL), hemólisis (hemoglobina hasta 180 mg/dL) no producen interferencias significativas.

Valores de bilirrubina entre 5 y 38 mg/dL producen resultados falsamente disminuidos proporcionales a la concentración de bilirrubina.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

A- Condiciones de reacción

Lectura: Longitud de onda 500 nm

Medida: Contra Blanco

Tipo de reação: Ponto final

B- Técnica de Análise

1. Identificar 3 tubos de ensaio com "Branco", "Teste" e "Padrão" e proceder:

Tubos	Branco	Teste	Padrão
Soro	----	0,01 mL	----
Padrão (1)	----	----	0,01 mL
Reagente de Cor (2)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogeneizar e incubar em banho-maria a 37 °C por 10 minutos

O nível de água do banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos.

3. Fazer as leituras fotométricas do Padrão (AP) e do Teste (AT), zerando o aparelho com o Branco em 500 nm (490 a 510 nm).

A cor é estável durante 1 hora.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL.

Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado.

Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculo se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos

Colesterol (mg/dL) = $\frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 200$

Exemplo:

Absorbância do Teste = 0,290

Absorbância do Padrão = 0,345

Colesterol (mg/dL) = $\frac{0,290}{0,345} \times 200 = 168$

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, calcular a concentração do teste através do Fator de Calibração (FC).

CP = Concentração do Padrão = 200 mg/dL

AP = Absorbância do Padrão

CT = Concentração do Teste

AT = Absorbância do Teste

FC = CP ÷ AP

CT (mg/dL) = FC x AT

Exemplo:

CP = 200 mg/dL

AP = 0,347

AT = 0,301

FC = CP ÷ AP = 200 ÷ 0,347 = 576

CT (mg/dL) = FC x AT = 576 x 0,301 = 173 mg/dL

Atenção

- Esta técnica de dosagem é adequada para fotômetros cujo volume mínimo de solução para a leitura é igual ou menor do que 1000 µL.
- O analista sempre deve fazer uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro empregado no seu laboratório.
- Os volumes de amostra e de reagente podem ser modificados proporcionalmente, sem alterar o desempenho do teste e os cálculos.
- Em caso de redução dos volumes é necessário observar o volume mínimo de leitura fotométrica.
- Volumes da amostra menores do que 10 µL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Calibração

Rastreabilidade do sistema

O padrão é rastreável ao (SRM) 911 do Standard Reference Material National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibrações manuais

Obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes ou quando o controle interno da qualidade indicar.

Sistemas automáticos

Branco de reagentes: água deionizada ou destilada, ou solução de cloreto de sódio 150 mmol/L (0,85 %);

Padrões: usar calibradores proteicos.

Intervalo de calibrações

Deve-se recalibrar o sistema nas seguintes situações:

Calibração de 2 o 3 pontos al cambiar de lote;

Calibração de 2 o 3 pontos cuando lo indique el control de calidad interno.

Conversión de unidades

Unidades convencionales (mg/dL) x 0,026 = Unidades SI (mmol/L)

VALORES DESEADOS O RECOMENDADOS

Los valores de referencia y objetivo para el perfil lipídico, para adultos mayores de 20 años, se presentan según el estado metabólico del paciente previo a la toma de muestra, sin ayuno y con ayuno de 12 horas.

Valores de referencia y diana terapéutica según la valoración del riesgo cardiovascular estimada por el médico solicitante del perfil lipídico para adultos > 20 años.

Adultos

Lípides	Con ayuno (mg/dL)	Sin ayuno (mg/dL)	Categoría referencial
Colesterol Total*	< 190	< 190	Deseable
HDL- C	> 40	> 40	Deseable

CT* >310 mg/dL hay probabilidad de hipercolesterolemia familiar (FH).

Niños y Adolescentes

Lípides	Con ayuno (mg/dL)	Sin ayuno (mg/dL)
Colesterol Total*	< 170	< 170

CT* >230 mg/dL hay probabilidad de hipercolesterolemia familiar (FH).

AUTOMATIZACIÓN

Este kit se puede utilizar en la mayoría de los analizadores automáticos.

El consumidor podrá solicitar más información a través del Sector de Atención al Cliente (SAC) o accediendo al sitio web www.goldanalisa.com.br

La calibración con el estándar acuoso puede causar desviaciones en algunos analizadores. En estos casos, se recomienda calibrar con un calibrador de proteínas - Calibrador - Cat. 410 - Gold Analyze.

CONTROL DE CALIDAD

El laboratorio clínico debe mantener un Programa de Garantía de Calidad para garantizar que todos los procedimientos de laboratorio se realicen de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.

Los materiales de control se deben utilizar para evaluar la inexactitud y/o las desviaciones de la calibración. Se sugiere intentar cumplir como límites máximos de control las especificaciones propuestas por el NCEP para coeficiente de variación ≤3%, error sistemático (sesgo) ≤±3% y error total ≤9%.

Para controlar y verificar el desempeño del kit, utilice Control Serum N y Control Serum P de Gold Analyze.

Es importante que cada laboratorio establezca sus propios valores medios y respectivos límites de variación.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO 10

linealidad

La reacción es lineal hasta 500 mg/dL. Para valores superiores, diluir la muestra con solución de NaCl 150 mmol/L (0,85%) y realizar una nueva determinación. Multiplicar el valor obtenido por el factor de dilución utilizado.

Diluir la muestra de forma que el valor encontrado esté entre 150 y 300 mg/dL. Sugerimos verificar la linealidad metodológica y fotométrica, al menos cada seis meses, utilizando muestras con valores de hasta 500 mg/dL.

Exactitud

El método propuesto se comparó con un método similar utilizando 20 muestras con valores entre 112 y 357 mg/dL. La comparación resultó en la ecuación de regresión: $y = 11,93 + 0,984x$ y un coeficiente de correlación (r) igual a 0,996.

El error sistemático total (constante y proporcional) verificado a la concentración de 250 mg/dL fue igual a 3,17%. Como las muestras fueron seleccionadas aleatoriamente de pacientes ambulatorios, se puede inferir que el método tiene una adecuada especificidad metodológica.

Repetibilidad

La imprecisión intraensayo se calculó con 20 determinaciones sucesivas de colesterol usando dos muestras de suero de diferentes concentraciones.

Los promedios de los coeficientes de variación obtenidos fueron:

	N	Promedio	DP	CV (%)
Muestra 1	20	71	1,01	1,4
Muestra 2	20	115	2,69	2,3

Reproducibilidad

La imprecisión entre ensayos se calculó con 20 determinaciones de colesterol en días diferentes utilizando dos muestras de suero de diferentes concentraciones.

Los promedios de los coeficientes de variación obtenidos fueron:

	N	Promedio	DP	CV (%)
Muestra 1	20	71	1,87	2,6
Muestra 2	20	115	3,03	2,6

Sensibilidad metodológica

Se utilizó una muestra de proteína sin colesterol para calcular el límite de detección del ensayo y se encontró un valor de 1,80 mg/dL, equivalente a la media de 10 ensayos más tres desviaciones estándar.

Efectos de la dilución de la matriz

Se utilizaron dos muestras con valores de 330 y 400 mg/dL para evaluar la respuesta del sistema a las diluciones de la matriz con 150 mmol/L NaCl (0,85%). Utilizando factores de dilución que oscilaron entre 2 y 8 encontraron recuperaciones entre 99 y 113%.

Límite de detección

El límite de detección es igual a 0,3 mg/dL, equivalente a tres desviaciones estándar (DE) obtenidas de un ensayo con veinte medidas (20) de la absorbancia del blanco de reacción en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm.

Comparación de métodos

El producto se comparó con otro producto similar disponible en el mercado mediante el análisis de 146 muestras de suero humano con valores desconocidos. Los resultados analizados por modelos estadísticos mostraron que no existe diferencia significativa a un intervalo de confianza del 95% con una ecuación de regresión lineal donde $y = 1.013x - 2$.

COMENTARIOS

1. La observación cuidadosa de la limpieza y el secado de la cristalería, la estabilidad de los reactivos, el pipeteo, la temperatura y el tiempo de reacción es extremadamente importante para obtener resultados precisos y exactos.
2. Para limpiar la cristalería, se puede utilizar un detergente neutro o una solución ácida. El último lavado debe hacerse con agua destilada o desionizada.
3. El agua utilizada en los laboratorios clínicos debe ser purificada utilizando métodos adecuados para los fines de uso. Las columnas desionizantes saturadas liberan varios iones, aminas y agentes oxidantes que deterioran los reactivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alain CA, Poon LS, Cahn CSG, Richmond W, Fu PC. Clin Chem 1974;20:470.
2. Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, 3 ed, Verlag Chemie:Weinheim, 1984;8:141-8.
3. Bull Org Mond Santé. 1970;43:891
4. Fredrickson DS, Levy RJ, Lee RS. New Engl J Med 1967; 276:24, 94, 148, 215, 276.
5. Good NE, Winger GD, Winter W, Connolly TN, Izawa S, Singh RMM. Biochemistry 1966;5:467.
6. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH. Handbook of lipoprotein testing. AAC Press: Washington, 1997:75-97.
7. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostics Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
8. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
9. Leite PF, Martinez TLR, Halpern A, Cendoroglo MS, Novazzi JP, Fonseca FAH, Dias JCA. Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Loyola, 1994. P.56.
10. Executive Summary of the Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486-97.
11. Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico, 2016.
12. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al; European Atherosclerosis Society (EAS) and the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) joint consensus initiative. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points-a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Eur. Heart J. 2016;37(25):1944-58
13. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

TÉRMINOS Y CONDICIONES DE LA GARANTÍA DE CALIDAD DEL PRODUCTO Ley N° 8078 del 11-9-90 - Código de Protección al Consumidor

Gold Análise garantiza la reposición, sin cargo para el consumidor, de todos los productos que demuestren tener problemas técnicos, siempre que el usuario utilice equipos y materiales en buenas condiciones técnicas, siga estrictamente el procedimiento técnico y las recomendaciones establecidas en las Instrucciones de uso. .
Número de lote y fecha de caducidad: consulte las etiquetas del producto
Gold Analise Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
AF MS N° 800222-3 - Reg. MS - N° 80022230064
Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773
Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888
Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020
Página de inicio: www.goldanalisa.com.br
Correo electrónico: goldanalisa@goldanalisa.com.br
Sector de Atención al Cliente (SAC): 0800 703 1888

Análise es una marca registrada de Gold Análise Diagnóstica Ltda.

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Límite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisión: 07/22