

Utilização prevista

Para a determinação quantitativa direta do colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) no soro ou plasma humanos utilizando o analisador Yumizen C230 e Yumizen C240. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*. **Rx Only**.

Resumo

As lipoproteínas plasmáticas são partículas esféricas que contêm quantidades variáveis de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos e proteínas. O fosfolípido, a proteína e o colesterol livre constituem a superfície exterior da partícula de lipoproteína, enquanto o núcleo interior contém em grande parte triglicéridos e colesterol esterificado. Estas partículas servem para solubilizar e transportar o colesterol e triglicéridos na corrente sanguínea.

As proporções relativas de proteínas e lípidos determinam a densidade destas lipoproteínas plasmáticas e providenciam uma base para a respetiva classificação.¹ As classes são: lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL). Diversos estudos clínicos demonstraram que as diferentes classes de lipoproteínas têm efeitos variados.^{2,4} Todos os estudos apontam para o colesterol LDL como sendo o fator-chave na patogénese da aterosclerose e na doença das artérias coronárias (DAC),²⁻⁸ enquanto se tem observado que o colesterol HDL tem frequentemente um efeito protetor. Mesmo dentro do intervalo normal de concentrações de colesterol total, pode dar-se um aumento de colesterol LDL associado a um risco de DAC.⁴

Ao longo dos anos, foram implementados diversos métodos de determinação, ou estimativa, do colesterol LDL. A equação de Friedewald, em diversas formas, tem sido utilizada com mais frequência para estimar o colesterol LDL. No entanto, a sua utilidade é limitada e a sua precisão tem sido questionada. A determinação do colesterol LDL por beta-quantificação é reconhecida como o método de referência, mas o procedimento é tão complexo que relativamente poucos laboratórios utilizam este método. Um método recente que utiliza a imunoseparação tornou-se popular. No entanto, este método ainda requer o pré-tratamento da amostra antes da determinação do colesterol, tornando-o inadequado para a automatização total do procedimento. O método aqui apresentado oferece uma determinação direta do colesterol LDL num reagente líquido estável de duas partes, que se adapta facilmente à maioria dos analisadores de química automatizados.

Composição do reagente

Componentes	Aspeto	Ingredientes
Reagente 1	Líquido	Tampão MES (pH 6,3)
		Detergente 1 Colesterol esterase Colesterol oxidase Peroxidase 4-aminoantipirina Ácido ascórbico oxidase Agente conservante
Componentes	Aspeto	Ingredientes
Reagente 2	Líquido	Tampão MES (pH 6,3)
		Detergente 2 N,N-bis (4-sulfobutil)- m-toluidina-dissódio (DSBmT) Agente conservante

Colesterol oxidase de *Nocardia* sp., colesterol esterase de *Pseudomonas* sp., peroxidase de rábano, ácido ascórbico oxidase de *Cucurbita* sp.

Princípio

O Reagente de Colesterol autoLDL™ é um método líquido estável de duas partes para a medição direta dos níveis de LDL-C no soro ou plasma. Este método depende das propriedades de um detergente exclusivo que elimina a necessidade de qualquer tratamento prévio ou de passos de centrifugação. Este detergente (Reagente 1) solubiliza apenas as partículas da lipoproteína não-LDL. O colesterol libertado é consumido pelo colesterol esterase e pelo colesterol oxidase numa reação não formativa de cor. Um segundo detergente (Reagente 2) solubiliza as restantes partículas de LDL e um acoplador cromogénico permite a formação de cor. A reação enzimática com LDL-C na presença do acoplador produz uma cor proporcional à quantidade de colesterol LDL presente na amostra.

HDL, VLDL, quilomícrons -----> HDL solubilizado, VLDL, quilomícrons -----> HDL consumido, VLDL, quilomícrons (sem cor)

LDL -----> Detergente/Rgt1 -----> Não solubilizado Colesterol LDL -----> Detergente/Rgt2 -----> Solubilizado Colesterol LDL

Colesterol esterase
Colesterol oxidase

LDL solubilizado -----> Colesterol -----> + H₂O₂

Peroxidase

H₂O₂ + DSBmT + 4-AA -----> Desenvolvimento de cor (medido bicromaticamente a 546 e 660 nm)

Preparação dos reagentes

Reagente 1: O Reagente 1 está pronto a utilizar.

Reagente 2: O Reagente 2 está pronto a utilizar.

Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Todos os reagentes mantêm-se estáveis até à data de validade indicada no rótulo quando armazenados a uma temperatura entre 2 e 8°C.

Precauções

1. O reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. Não utilize a pipeta com a boca.
3. Todas as amostras utilizadas neste teste devem ser consideradas potencialmente infecciosas. Devem ser aplicadas as precauções universais, relativas às suas instalações, na preparação e eliminação dos materiais durante e depois de efectuar o teste.
4. Não utilize os reagentes após a data de validade impressa no rótulo do kit.

Colheita e armazenamento de amostras

As amostras recomendadas são o soro, plasma tratado com EDTA ou heparinizado. Não é necessário que os pacientes façam jejum antes da recolha de sangue.

Soro: Faça a recolha do sangue total por venipunctura e deixe-o coagular. Centrifugue e remova o soro logo que possível após a colheita (num espaço de 3 horas).¹⁰

Plasma: As amostras podem ser recolhidas em EDTA ou em heparina. Centrifugue e remova o plasma logo que possível após a colheita (num espaço de 3 horas).¹⁰

Se não forem logo analisadas, as amostras podem ser armazenadas a 2-8 °C durante um período máximo de 5 dias. Se for necessário armazenar as amostras durante mais de 5 dias, podem ser congeladas a - 80°C.

Interferências

Todos os estudos de interferências foram realizados de acordo com os procedimentos recomendados na diretriz n.º EP7-P do NCCLS relativa aos testes de interferências em química clínica.¹² Apurou-se que os níveis de hemoglobina até 400 mg/dL, os níveis de bilirrubina até 20 mg/dL e de triglicéridos até 1500 mg/dL apresentavam uma interferência negligenciável (<5%) neste método. As amostras com níveis de substâncias interferentes superiores aos limites superiores devem ser diluídas com soro fisiológico antes de serem submetidas a ensaio. Multiplique os resultados obtidos da diluição manual pelo fator de diluição adequado. Para obter uma avaliação exaustiva da interferência de medicamentos no colesterol LDL sérico, consulte Young et al.¹³

Conjunto de Reagentes de Colesterol autoLDL™ Pointe

Materiais fornecidos

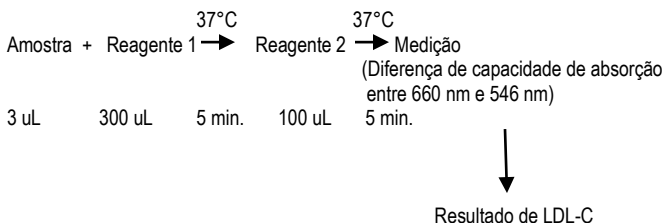
Conjunto de Reagentes de Colesterol autoLDL™	
N.º de catálogo	12-L7574-162
Reagente 1	3 x 40 mL
Reagente 2	3 x 14 mL

Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
2. Manual de utilização do Yumizen C230/Yumizen C240
3. Calibrador autoHDL/LDL™ Pointe, N.º de cat. H7545-CAL
4. Controlos de Lípidos Pointe, número de catálogo L7580-18

Procedimento

Segue-se um exemplo geral do procedimento de teste autoLDL™ para um analisador automatizado. Todas as aplicações do analisador devem ser validadas de acordo com as recomendações do NCEP e CLIA.¹⁰ Para obter assistência com as aplicações nos analisadores automatizados, contacte o Departamento de Assistência Técnica da HORIBA Medical através do número de telefone (800)445-9853.



Parâmetros de teste

Teste:	LDL	Química: auto LDL Colesterol
N.º de química:	224	Nome de imprensa: LDL Colesterol
Tipo de reação:	Endpoint	Direção de reação: Positiva
Onda pri.:	546 nm	Onda sec: 670 nm
Decimal:	0	Tipo de amostra: Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação: 16 18
Unidade:	mg/dL	Tempo de incubação: 18

	Vol. de amostra	Aspirado	Diluyente	Vol. de reagente	Diluyente
Padrão;	3	uL	uL	180 uL	uL
Diminuído;		uL	uL	60 uL	uL
Aumentado;		uL	uL		

Intervalo de linearidade (padrão); 0-370	Limite de linearidade:
Intervalo de linearidade (diminuído):	Redução de substrato:
Intervalo de linearidade (aumentado):	Abs. de branco misturado: - 40000 40000
Abs. de branco R1: - 40000 40000	Estabilidade no equipamento: 30 Dia(s)
Resposta de branco - 40000 40000	Limite de alarme do reagente: 5
Química dupla:	

Verificação prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Utilizar resultado qualitativo:	
Intervalo:	Referência:

Desvio de declive:			
Declive	Desvio	Unidade	
1	0	g/dL	

Pré-tratamento:	
Vol. de amostra pré-tratada: uL	Vol. de reagente pré-tratado: uL

Intervalo de ref.:					
Tipo de amostra:	Sexo:	Intervalo de idades:	Intervalo de ref.:	Intervalo crítico:	Unidade:

Parâmetros de configuração da calibração

Quím:	LDL				
Definição da calibração	Modelo matemático: Linear de 2 pontos	Calibrador	Conc.	Pos	N.º do lote
Fator: Réplicas: 2		Água	0,0	W	
Limites de aceitação		Cal HDL LDL	*	*	
Tempo cal: 336 h					
Dif declive: DP:					
Sensibilidade: Repetibilidade:					* Definida pelo utilizador
Deter coef:					
Calib. auto.	<input type="checkbox"/> Tempo cal				

Limitações

1. Os anticoagulantes que contêm citrato não devem ser utilizados.
2. Proteja os reagentes da luz solar direta.
3. As amostras com valores superiores a 370 mg/dL nos analisadores da série Yumizen 200 devem ser diluídas a 1:1 com solução salina e novamente submetidas a ensaio. Multiplique o resultado por dois.

Calibração

O Calibrador de Colesterol autoHDL/LDL™ é necessário para a calibração. Os valores do calibrador foram determinados por procedimentos descritos no National Reference System for Cholesterol (NRS/CHOL). Consulte o folheto informativo do Calibrador de Colesterol autoHDL/LDL™ para obter instruções. Se os resultados do controlo estiverem fora do intervalo, o procedimento deve ser novamente calibrado.

Controlo da qualidade

A fiabilidade dos resultados dos testes deve ser habitualmente monitorizada com materiais de controlo que tenham um desempenho considerável nas amostras dos pacientes.¹⁰ Os materiais de controlo de qualidade destinam-se apenas a ser utilizados como monitores de exatidão e precisão. A recuperação dos valores de controlo dentro do intervalo adequado deve basear-se nos critérios utilizados na avaliação do desempenho futuro do ensaio. Os controlos devem ser efetuados em cada turno de trabalho em que sejam realizados ensaios de LDL-C. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser determinados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

Resultados

Para converter de unidades convencionais em unidades do S.I., multiplique as unidades convencionais por 0,02586.

Exemplo: mg/dL x 0,02586 = mmol/L LDL-C

Valores esperados

As seguintes recomendações do NCEP para classificações de pacientes são sugeridas para a prevenção e controlo da doença cardíaca coronária:⁸

<u>Colesterol LDL</u>	<u>Classificações</u>
<130 mg/dL (3,36 mmol/L)	Desejável
130-159 mg/dL (3,36-4,11 mmol/L)	Risco elevado "borderline"
160 mg/dL (4,14 mmol/L)	Risco elevado
Recomenda-se vivamente que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de valores esperados.	

Características de desempenho

Intervalo do ensaio: 0-370 mg/dL

Exatidão: Estudos que compararam o método do Reagente de Colesterol autoLDL™ Líquido utilizado nos analisadores da série Yumizen 200 e um analisador semelhante produziram os seguintes resultados:

Método	Colesterol autoLDL™
N	30
Colesterol LDL médio	106
Intervalo (mg/dL)	50-159
Desvio padrão (mg/dL)	28
Análise de regressão	$Y=1,017x + 1,7$
Coefficiente de correlação	$R=0,990$

Precisão:

A precisão no mesmo dia do Reagente de Colesterol autoLDL™ foi determinada na sequência de uma modificação do documento NCCLS EP5-T2¹⁷ utilizando os analisadores da série Yumizen 200. Os estudos de precisão no mesmo dia produziram os seguintes resultados:

Amostra	LOW	HIGH
N	20	20
Colesterol LDL médio (mg/dL)	28	146
Desvio padrão (mg/dL)	0,5	2,5
Coefficiente de variação (%)	1,7	1,7

A precisão entre dias também foi determinada na sequência de uma modificação do documento NCCLS EP5-T2.¹⁷ Os estudos de precisão entre dias realizados nos analisadores da série Yumizen 200 produziram os seguintes resultados:

Amostra	LOW	HIGH
N	20	20
Colesterol LDL médio (mg/dL)	26	147
Desvio padrão (mg/dL)	0,9	2,9
Coefficiente de variação (%)	3,3	2,0

Sensibilidade: Limite de detecção de 2 DP (95% de Conf) = 0,627 mg/dL.

Bibliografia

- Gotto, A.M., Lipoprotein Metabolism and the etiology of Hyperlipidemia, Hospital practice, 23:Suppl. 1,4 (1988).
- Crouse, J.R., et al., Studies of Low Density Lipoprotein Molecular Weight in Human Beings with Coronary Artery Disease, J. Lipid Res., 26:566 (1985).
- Badimon, J.J., Badimon L., Fuester V., Regression of Atherosclerotic Lesions by High-density lipoprotein Plasma fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit, Journal of Clinical Investigation, 85:1234-41 (1990).
- Castelli, W.P., et al., Cholesterol and other Lipids in coronary heart disease, Circulation, 55-767 (1977).
- Barr, D.P., Russ, E.M, Elder, H.A., Protein-Lipid Relationships in Human Plasma, Am. J. Med. 11:480 (1951).
- Gordon, T., et al, High Density Lipoprotein as a Protective Factor Against Coronary Heart Disease, Am. J. Med., 62:707 (1977).
- William, P., Robinson, D., Baily A., High Density Lipoprotein and Coronary Risk Factor, Lancet, 1:72 (1979).
- Kannel, W.B., Castelli W.P., Gordon, T., Cholesterol in the Prediction of Artherosclerotic Disease; New Perspectives Based on the Framingham Study, Am. Intern. Med., 90:85 (1979).
- National Institutes on Health Publication no. 93-3095, September 1993.
- Warnick, G. Russell, Wood Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High Density Lipoprotein Cholesterol; Executive Summary, Clinical Chemistry, Vol. 41, No. 10, 1995.

- Grundy, S.M., et al, Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II) JAMA 1993, 269:23,3015-3023.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation Protocol Number 7, Vol. 4, No. 8, June 1984.
- Young, D.S. Effects of Drugs on clinical Laboratory Tests, 3rd ed., AACC Press, Washington, D.C., 1990, 3-104 thru 3-106.
- Tietz, N.W., Clinical Guide to Laboratory Tests, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, p. 256.
- Carey, R., Gerber, C.C., Evaluation of Methods. In Kaplan LA, Pesce, A.J., eds. Clinical Chemistry: theory, analysis and correlation. Third Edition. St. Louis: The CV Mosby Company.
- Westgard, J.O., Carey, R.N., Wold, S., Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. Clinical Chemistry 1974:20:825-833.
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices" 2nd Ed. 1992.

Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	Marcação CE
Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica	
Representante autorizado na Comunidade Europeia	

12-L7574-162 Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188



Representante Europeu Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net

Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.