

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 C560. 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 patogênese 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, conservante
Componentes	Aspeto	Ingredientes
Reagente 2	Líquido	Tampão MES (pH 6,3)
		Detergente 2, N,N-bis(4-sulfobutil)-m-toluidina-dissódio, (DSBmT), 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 $\xrightarrow{\text{Detergente/Rgt1}}$ Não solubilizado Colesterol LDL $\xrightarrow{\text{Detergente/Rgt2}}$ Solubilizado Colesterol LDL $\xrightarrow{\text{Colesterol Esterase, Colesterol Oxidase}}$ + H₂O₂

H₂O₂ + DSBmT + 4-AA $\xrightarrow{\text{Peroxidase}}$ 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. Estudos do fabricante demonstraram que o reagente mantém-se estável durante 30 dias uma vez colocado no carrossel de reagentes refrigerados (2-10°C), no entanto, a estabilidade dos reagentes pode variar com base nas condições laboratoriais individuais.

Precauções

- O reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
- Não utilize a pipeta com a boca.
- 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.
- Não utilize os reagentes após a data de validade impressa no rótulo do kit.

Perigos:

R1 e R2: Classificações de perigo: Não é uma substância ou mistura perigosa.

Pictograma e palavra-sinal: Não é necessária.

Advertências de perigo: Não é uma substância ou mistura perigosa.

Conjunto de Reagentes de Colesterol autoLDL™ Pointe

Recomendações de prudência: Não é uma substância ou mistura perigosa.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança deste produto (SDS-L7574), disponível através do número de telefone 1-734-487-8300.

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 1380 mg/dL apresentavam uma interferência negligenciável (<10%) 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

Materiais fornecidos

Reagente R1 de autoLDL, Reagente R2 de autoLDL

Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Calibrador de autoHDL/LDL™, N.º de cat. H7545-CAL
2. Analisador Yumizen C560
3. Manual de utilização do Yumizen C560
4. Controlos de lípidos, número de catálogo L7580-18

Procedimento

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.

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 650 mg/dL no Yumizen C560 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, pode ser necessário calibrar novamente o teste. Em condições de operação típicas, os estudos de estabilidade de calibração do fabricante mostraram que a curva de calibração se mantém estável durante, pelo menos, 14 dias.

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 específicas

- Intervalo do ensaio: 0-650 mg/dL.
- Correlação: Foi realizado um estudo entre o Yumizen C560 e um analisador semelhante utilizando este método, com os seguintes resultados:

Método	LDL
N	80
LDL média (mg/dL)	105,4
Intervalo (mg/dL)	8-238
Desvio padrão	53,4
Análise de regressão	$y = 1,086x - 5,8$
Coefficiente de correlação	0,9841

- Precisão: Foram realizados estudos de precisão na sequência de uma modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.¹²

Amostra	No mesmo dia			Total		
	LOW	MID	HIGH	LOW	MID	HIGH
N	20	20	20	40	40	40
Média	183,0	251,7	538,6	188,2	257,6	563,2
Desvio padrão	1,4	1,6	9,6	9,8	12,5	26,0
Coefficiente de variação (%)	0,8%	0,6%	1,8%	5,2%	4,8%	4,6%

- Sensibilidade: Limite de detecção de 2 DP (95% de Conf) = 0 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.

Conjunto de Reagentes de Colesterol autoLDL™ Pointe

PARÂMETROS DE QUÍMICA

Quím:	LDL	N.º:	224	Tipo de amostra:	Soro				
Química:	Colesterol autoLDL	Nome em letra de imprensa:	LDL	Direção de reação:	Positiva				
Tipo de reação:	Critério de avaliação	Onda pri:	546	Onda sec:	660				
Unidade:	mg/dL	Decimal	0	Tempo de reação:	80 82				
Tempo de branco:	47 48	Vol. amostra	Aspirado	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente			
Padrão:	1,5 uL	---	uL	---	uL	R1: 120 uL	---	uL	
Diminuído:	---	uL	---	uL	---	uL	R2: 40 uL	--	uL
Aumentado:	---	uL	---	uL	---	uL	R3: --- uL	--	uL
	<input type="checkbox"/> Branco da amostra	<input checked="" type="checkbox"/> Repetição automática				R4: --- uL	---	uL	
Ajuste de declive/desvio									
Declive: 1		Desvio: 0							

Intervalo de linearidade (padrão)	0	650	Limite de linearidade:
Intervalo de linearidade (diminuído)	---	---	Redução de substrato:
Intervalo de linearidade (aumentado)	---	---	Abs de branco misturado:
Abs de branco R1:	---	---	Tempo para destapar
Resposta de branco:	---	---	Limite de alarme do reagente:
Química dupla:			<input type="checkbox"/> Extensão linear da enzima
<input type="checkbox"/> Verificação prozona	<input type="checkbox"/> Verificação de taxa	<input type="checkbox"/> Adição de antígeno	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

PARÂMETROS DE CALIBRAÇÃO

Definição do calibrador						
Calibrador:	*	N.º do lote:			*	
Data de validade:	*					
Carrossel	Pos					
Carrossel de amostras 1	*					
Carrossel de amostras 2						
Carrossel de amostras 3						
Reagente/Calibração						
<u>Calibrador</u>	<u>Pos</u>	<u>N.º do lote</u>	<u>Data de validade</u>	<u>Quím</u>	<u>Conc</u>	<u>Unidade</u>
Água	A	*	*	LDL	0	mg/dL
Calibrador autoHDL/LDL	*	*	*	LDL	*	mg/dL
Configuração da calibração						
Quím:	LDL					
<u>Definições da calibração</u>						
Modelo matemático: Linear de dois pontos						
Fator:		Réplicas: 2				
<u>Limites de aceitação</u>						
Tempo cal:	336	Hora				
Dif declive:	---	DP:	---			
Sensibilidade:	---	Repetibilidade:	---			
Deter coef:	---					
<u>Calib. auto.</u>						
<input type="checkbox"/> Frasco trocado	<input type="checkbox"/> Lote trocado	<input type="checkbox"/> Tempo cal				

Recomenda-se que dois níveis de material de controlo sejam submetidos a ensaio diariamente.

* Indica parâmetros definidos pelo utilizador.

REF 14-L7574-320



Fabricado para a
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



2°C - 8°C



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.

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



Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD) **LOT** Lote e código **REF** Número de catálogo

Fabricante Limite de temperatura Consulte as instruções de utilização

IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica