

REF 10211-4 4 x 29 mL / 10 mL

HDL COLESTEROL (HDL)

Os frascos em forma de cunha contêm volumes úteis de 29 mL do reagente R1 e 10 mL do reagente R2.

INDICAÇÃO DE USO

O reagente HDL EasyRA destina-se à medição quantitativa de lipoproteínas de alta densidade no soro ou plasma humanos, usando o "Analisador Químico EasyRA®" MEDICA em laboratórios clínicos.

Para uso somente em diagnósticos *in vitro*. Somente para uso profissional.

Este teste de colesterol HDL é certificado pela Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN).

RESUMO E EXPLICAÇÃO

As lipoproteínas solubilizam e transportam colesterol e outros lipídios no sangue. Há várias classes de lipoproteínas que causam efeitos diferentes no coração e no sistema cardiovascular.¹ Quantidades elevadas de lipoproteínas de alta densidade (HDL) estão associadas a risco reduzido de doença cardíaca coronariana e podem funcionar como fator de proteção. A medição do HDL colesterol (HDL) auxilia no diagnóstico precoce e no tratamento de distúrbios de metabolismo de lipídios e lipoproteínas. Níveis baixos de HDL colesterol estão fortemente associados a risco elevado de doença cardíaca coronariana e doença arterial coronariana.^{2, 3} Portanto, a determinação do HDL-C no soro é útil para a identificação de pacientes de alto risco. O Painel de Tratamento de Adultos do programa National Cholesterol Education Program (NCEP) recomenda que, para adultos a partir dos 20 anos, um perfil lipoprotéico em jejum (colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol e triglicérides) seja calculado a cada 5 anos para identificação de risco de doença cardíaca coronariana.⁴ O método de referência para HDL colesterol é a análise de Abell-Kendall.⁵ Entretanto, visto que o método de referência requer ultracentrifugação e precipitação e não pode ser totalmente automatizado, métodos homogêneos (diretos) tiveram que ser desenvolvidos. Esse método baseia-se na aceleração da reação da colesterol oxidase com colesterol não esterificado e não HDL e na dissolução seletiva de HDL utilizando um detergente específico (a saber, método "Detergente Acelerador Seletivo").

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Esse método de análise direta para medição do HDL colesterol envolve a remoção de outras lipoproteínas não HDL por meio de reações seletivas com o Reagente 1. Na segunda etapa, o detergente seletivo do Reagente 2 solubiliza especificamente o HDL colesterol, que então reage com um cromogênio e desenvolve coloração que pode ser lida por métodos ópticos a 600 nm. A intensidade da cor na absorbância máxima a 600 nm é proporcional à concentração de HDL colesterol na amostra.

REAGENTES

REAGENTE PARA HDL (R1):

Tampão de Good	
Colesterol oxidase (E. coli)	< 1000U/L
Peroxidase (raiz-forte)	< 1300 ppg U/L
N, N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidina-dissódica (DSBmT)	< 1 mM
Acelerador	< 1 mM
Conservante	< 0,06%

Reagente para HDL (R2):

Tampão de Good	
Colesterol esterase (Pseudomonas sp.)	< 1500 U/L
4-Aminoantipirina	< 1 mM
Detergente	< 2%
Retardador	< 0,15%
Conservante	< 0,06%
Ácido ascórbico oxidase (Curcubita sp.)	< 3000 U/L

PRECAUÇÕES

1. As boas práticas de segurança em laboratórios devem ser seguidas para o manuseio de qualquer reagente (CLSI, GP17-A2).
2. Os reagentes contêm menos de 0,1% de azida de sódio, que pode reagir com tubulações de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Consulte a Folha de Informações sobre Segurança para informações sobre riscos e medidas de segurança.
3. Como para qualquer procedimento de teste de diagnóstico, os resultados devem ser interpretados considerando-se os resultados de outros testes e o estado clínico do paciente.
4. Não utilize cubetas lavadas.

INSTRUÇÕES DE MANUSEIO, ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DO REAGENTE

O reagente é fornecido pronto para o uso. O reagente permanecerá estável em frasco fechado até a data de validade informada no rótulo desde que armazenado a 2 - 8 °C. O reagente permanece estável a bordo na área refrigerada de reagentes do Analisador EasyRA pelo número de dias programado no chip RFID encontrado no frasco. Não utilize o reagente se estiver turvo ou opaco ou se os valores conhecidos para controle de soro não forem obtidos.

COLETA E ARMAZENAGEM/ESTABILIDADE DA AMOSTRA⁵

A amostra deve ser composta de soro ou plasma fresco, retirado do paciente após 12-14 horas de jejum. As amostras devem ser coletadas utilizando-se heparina de lítio como anticoagulante. Remova o soro ou plasma assim que possível após a coleta (dentro de no máximo 3 horas). Se as análises não forem concluídas dentro de 14 horas, o soro poderá ser armazenado por até 7 dias a 2 - 8 °C. Se as amostras precisarem ser armazenadas por mais de 1 semana antes de serem testadas, elas poderão ser congeladas a < -70 °C por até 3 meses. As amostras devem ser congeladas apenas uma vez. Consulte CLSI H18-A para instruções adicionais sobre coleta, manuseio e armazenagem de amostras.

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos

Frasco de Reagente para HDL Medica, REF 10211

Materiais adicionais necessários

Calibrador Medica para HDL, REF 10653

Controle de Qualidade EasyCQ Medica – Nível A – Química/Eletrólitos, REF 10793

Controle de Qualidade EasyCQ Medica – Nível B – Química/Eletrólitos, REF 10794

Frasco de Corante Medica para Teste de Precisão, REF 10764

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química e ISE, REF 10660 *ou*

Frasco de Solução de Limpeza Medica – Química, REF 10661

Instruções de Uso

O reagente é fornecido pronto para o uso. Remova a tampa e coloque o reagente na bandeja do Analisador EasyRA, localizada na área reservada para reagentes. A estabilidade a bordo (60 dias no máximo) encontra-se programada no chip RFID do frasco do reagente.

Observação: Após remover a tampa e colocar o frasco no analisador, verifique se há espuma no interior dos gargalos do frasco. Se houver espuma, remova com um swab ou com uma pipeta descartável antes de executar o teste. Utilize swabs ou pipetas descartáveis separadas para R1 e R2.

Calibração

O produto Calibrador Medica para HDL, REF 10653, é recomendado para calibração deste tipo de análise. O intervalo de calibração (30 dias no máximo) encontra-se programado no chip RFID do frasco do reagente. A recalibração é necessária quando houver mudança do número de lote de reagente ou alteração dos valores de controle de qualidade. O valor do Calibrador de HDL Colesterol foi atribuído por procedimentos rastreáveis ao National Reference System for Cholesterol (NRS/CHOL).

Controle de Qualidade

Recomenda-se a execução de dois níveis (normal e anormal) de controle baseado em soro humano diariamente (junto com a análise, sempre que forem executados testes com pacientes) e a cada troca de lote de reagente. A não obtenção de valores dentro do intervalo adequado a partir da análise do material de controle pode indicar deterioração do reagente, mau funcionamento do instrumento ou erros de procedimento. O laboratório deve seguir as diretrizes municipais, estaduais e federais de controle de qualidade ao usar materiais de controle de qualidade.

Resultados

Após concluir a análise, o Analisador EasyRA calcula a concentração de HDL a partir da razão entre a absorbância corrigida da amostra desconhecida e a absorbância corrigida do calibrador, multiplicada pelo valor do calibrador.

$$\text{HDL (mg/dL)} = \frac{[(A_{U_{600}} - A_{U_{700}}) - (A_{R_{600}} - A_{R_{700}})] - [(A_{U_{600}} - A_{U_{700}})_{SBik} - (A_{R_{600}} - A_{R_{700}})_{SBik}] \times dF}{[(A_{C_{600}} - A_{C_{700}}) - (A_{R_{600}} - A_{R_{700}})] - [(A_{C_{600}} - A_{C_{700}})_{SBik} - (A_{R_{600}} - A_{R_{700}})_{SBik}] \times dF} \times \text{Valor Cal}$$

Em que A_U e A_C são os valores de absorbância da amostra desconhecida e do calibrador, respectivamente; $A_{R_{BIK}}$ é a absorbância do branco de reagente; $SBik$ é o branco de amostra; e "Valor Cal" é a concentração de HDL no calibrador (mg/dL). Quando o volume da reação for alterado pela adição retardada do reagente R2, um fator de correção de diluição (dF) deverá ser incluído no cálculo.

Valores Esperados⁶

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de valores esperados, considerando-se as diferenças entre os instrumentos, as instalações laboratoriais e as populações locais.

O programa NCEP (National Cholesterol Education Program) determina que concentrações abaixo de 40 mg/dL de HDL-C no soro representam um fator independente de risco significativo de desenvolvimento de doença cardíaca coronariana. Da mesma forma, concentrações acima de 60 mg/dL foram comparadas a fatores de “risco negativo”, destacando o efeito protetor dos níveis elevados de HDL colesterol.

Limitações do Procedimento (por exemplo, amostra ultrapassa o intervalo do exame)

Evite usar amostras de soro ou plasma muito hemolisadas.

O Analisador EasyRA sinaliza qualquer resultado acima de 150 mg/dL como Linearidade Alta “LH”. Não programe novas rodadas automáticas para resultados acima do intervalo linear para este tipo de exame. O intervalo linear não pode ser estendido além de 150 mg/dL.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ⁷

Intervalo reportável

O intervalo reportável é de 2 a 150 mg/dL.

Inexatidão/Correlação (CLSI, EP9-A2)

A tabela a seguir lista os dados obtidos em uma comparação do desempenho do Reagente para HDL Medica (y) no Analisador EasyRA com o desempenho de um reagente para HDL similar (x) no Analisador COBAS MIRA* da Roche. Os dados mostrados abaixo representam determinações avulsas do Analisador EasyRA em comparação à média entre dois valores replicados obtidos no Analisador MIRAS COBAS da Roche.

Número de amostras	61	Intervalo de amostras	2 a 148 mg/dL
Declive	0,93	Intercepta y	1,8
Coefficiente de Correlação	0,9976	Equação de regressão	$Y = 0,93 \times X + 1,8$

**Cobas Mira é marca comercial registrada da Roche Diagnostics Operations, Inc, Indianapolis, IN*

A tabela a seguir relaciona os dados obtidos em uma comparação entre amostras de soro (x) e plasma li-heparinizado (y) correspondentes usando o Reagente para HDL Medica no Analisador EasyRA. Os dados abaixo representam uma única determinação de plasma em comparação à média de dois valores de soro replicados.

Número de amostras	70	Intervalo de amostras	1,62 a 14,71 mg/dL
Declive	0,9854	Intercepta y	-0,0643
Correlação	0,9891	Equação de regressão	$Y = 0,9854 \times X - 0,0643$

A precisão do método para HDL colesterol foi verificada por comparação com o Designated Comparison Method (DCM) para HDL Colesterol, utilizando-se 40 amostras frescas em um Laboratório da CRLMN. Um Certificado de Rastreabilidade foi emitido para este método, o que indica que o viés do método de referência é $\leq 3\%$, e o coeficiente de variação (CV) é $\leq 3\%$.

Imprecisão (CLSI, EP5-A2)

Medições duplicadas de cada um dos três níveis do material de CQ foram testadas duas vezes ao dia, por 20 dias. Tanto a precisão total quanto a precisão durante a rodada foram determinadas a partir desses dados.

Imprecisão em uma mesma rodada:

Nível de CQ mg/dL	SD na Rodada mg/dL	CV na Rodada %
33,2	0,65	1,96
64,6	0,96	1,49
39,6	0,80	2,02

Imprecisão Total:

Nível de CQ mg/dL	SD de Imprecisão Total mg/dL	CV de Imprecisão Total %
33,2	0,84	2,52
64,6	1,41	1,92
39,6	1,20	3,10

Linearidade (CLSI, EP6-A)

Linear de 2 a 150 mg/dL, com base na regressão linear $Y = 1,026 \cdot X + 1,741$. O intervalo linear não pode ser estendido além de 150 mg/dL.

Substâncias Interferentes (CLSI, EP7-A)

Alterações de até 10% nos valores foram classificadas como “nenhuma interferência significativa”.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 500 mg/dL de hemoglobina.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 30 mg/dL de bilirrubina.

Nenhuma interferência significativa foi observada em níveis de até 1000 mg/dL de triglicérides (utilizando-se Intralipid*).

*Intralipid é uma marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornece uma lista de medicamentos e outras substâncias que podem interferir em testes clínicos químicos.^{8,9}

REFERÊNCIAS

1. 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).
2. Castelli, W.P. et al., HDL Cholesterol and other lipids in coronary heart disease, Circulation, 55:767 (1977).
3. Romm PA., et al., *Relation of Serum Lipoprotein Cholesterol Levels to Presence and Severity of Angiographic Coronary Artery Disease*. Am. J. Cardiol. (1991) 67: 479-483.
4. Special Communication, 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 Vol 285:19, 2486-2497 (2001).
5. Warnick G.; Russell, Wood, Peter D., National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary, Clin Chem, 41:10, 1427-1433 (1995).
6. Gordon T., et al., *High Density Lipoprotein as a Protective Factor against Coronary Heart Disease: The Framingham Study*. Am J. Med. (1977) 62: 707-714.
7. Dados arquivados na Medica.
8. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
9. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC: AACC Press; 1997.

Parâmetros de Análise do EasyRA (HDL)

Comprimento de Onda Primário (nm)	600
Comprimento de Onda Secundário (nm)	700
Tipo de Reação	Endpoint (2)
Direção de Reação	Crescente
Branco de Reagente	Sim (com cada calibração)
Branco de Amostra	Sim
Tempo de Reação	10,4 min
Intervalo de calibração (máximo)	30 dias
Estabilidade a bordo do reagente	60 dias

Soro/plasma

Volume de amostra (µl)	2,5
Volume de diluente 1 (µl)	15
Volume do diluente 2 (µl)	20
Volume do reagente R1 (µl)	250
Volume do reagente R2 (µl)	83
Casas decimais (padrão)	0
Unidades (valores padrão)	mg/dL
Linearidade	2 a 150 mg/dL