

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro



HDL-C DIRETO

MS 80115310267



ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO MESMO.

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR: SAC (21) 3907 2534 / 0800 015 1414 / sac@kovalent.com.br

APRESENTAÇÃO

Artigo nº	Apresentação
1160075K	R1 3x20mL + R2 1x15mL
1160075M	R1 3x20mL + R2 1x15mL
1160250K	R1 1x200mL + R2 1x50mL
1160200R	R1 4x38,6mL + R2 4x11,4mL

FINALIDADE

Reagente de diagnóstico *in vitro* para determinação quantitativa de HDL-C (lipoproteína de alta densidade) em soro ou plasma em sistemas fotométricos.

SUMÁRIO

O colesterol, sintetizado por células do corpo e absorvido com a comida, é um componente da membrana celular e o precursor dos hormônios esteroides e dos ácidos biliares. O colesterol é transportado pelo plasma via lipoproteínas, que são complexos entre lipídios e apolipoproteínas. Existem quatro classes de lipoproteínas: lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e quilomícrons. Essas classes apresentam relação distinta com a aterosclerose coronária. O LDL está envolvido com o transporte do colesterol para as células periféricas, contribuindo com a formação das placas ateroscleróticas dentro da íntima arterial e está fortemente associado com a Doença Arterial Coronariana (DAC) e com a mortalidade. Mesmo com o colesterol total (TC) dentro da faixa de normalidade, uma alta concentração de LDL-colesterol (LDL-C) indica alto risco. O HDL-colesterol (HDL-C) tem efeito protetor impedindo a formação das placas e apresenta uma relação inversa à prevalência da DAC. De fato, baixos valores de HDL-C constituem um fator de risco independente. Uma das funções importantes do HDL envolve a remoção fisiológica do colesterol de tecidos periféricos e das células, e o transporte para o fígado. O conceito de que o HDL pode proteger contra a DAC teve origem primeiramente em estudos epidemiológicos da população saudável, em particular o estudo em Framingham. Em adição à uma série de efeitos antioxidantes, o HDL também funciona como um poderoso mediador das respostas celulares inflamatórias e antitrombóticas. As partículas de HDL são macromoléculas complexas sintetizadas pelo fígado e intestino e são formadas a partir de componentes de superfície. As partículas de HDL são liberadas no plasma durante a lipólise de lipoproteínas ricas em triglicerídeos. Essas partículas consistem em uma monocamada lipídica anfipática de fosfolipídios e colesterol com proteínas anfipáticas incorporadas, em torno de um núcleo de lipídeos hidrofóbicos, principalmente ésteres de colesterol e triglicerídeos. O monitoramento do HDL-C é altamente relevante na avaliação do risco cardiovascular. Níveis elevados de HDL-C usualmente estão relacionados à diminuição do risco cardiovascular; enquanto que a redução da concentração de HDL-C, especialmente em combinação aos níveis elevados de triglicerídeos, está associada com alto risco de Doença Arterial Coronariana, mesmo com taxas normais ou baixas de LDL-C. Os testes de triagem preferidos para dislipidemia e distúrbios lipídicos são TC e HDL-C, mas a maioria das diretrizes de triagem atualmente recomenda a análise de um perfil lipídico completo, incluindo TC, LDL-C, HDL-C e triglicerídeos¹⁻⁸.

MÉTODO

Determinações prévias de HDL-C foram realizadas por métodos de precipitação de consumo de tempo ou ultracentrifugação (método de referência em combinação com a medição do colesterol por Abell-Kendall). No entanto, a determinação direta do HDL-colesterol é utilizada na rotina⁹. O HDL-C Direto é um método homogêneo para a medição do HDL-colesterol sem etapas de centrifugação. Detergentes bloqueadores de polímeros protegem o LDL, VLDL e quilomícrons enquanto apenas o HDL-colesterol é determinado seletivamente por medição enzimática de colesterol¹⁰.

PRINCÍPIO

Éster HDL-colesterol $\xrightarrow{\text{CHE \& CHO}}$ Δ^4 -colestenoína + ácidos-graxos livres + H₂O₂

H₂O₂ + 4-aminoantipirina + H-DAOS $\xrightarrow{\text{POD}}$ Corante azul + H₂O

A intensidade do corante formado é diretamente proporcional à concentração de colesterol e é medido fotometricamente.

REAGENTES

Componentes e Concentrações

R1 Tampão	pH 6,85	20 mmol/L
Peroxidase (POD)		≥ 2000 U/L
Sal de sódio N-Etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina (H-DAOS)		≥ 0,7 mmol/L
R2 Tampão	pH 8,15	20 mmol/L
Colesterol Esterase (CHE)		≥ 400 U/L
Colesterol oxidase (CHO)		≥ 700 U/L
Peroxidase (POD)		≥ 15000 U/L
4-Aminoantipirina		≥ 1,5 mmol/L

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes são estáveis até o prazo da data de validade, se armazenados a temperatura de 2 a 8 °C, protegidos da luz e a contaminação for evitada. Não congele os reagentes!

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

1. Reagente 1: Aviso. Contém: mistura 5-cloro-2-metil-2H-isotiazolin-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1). H317 Pode provocar reações alérgicas na pele. P280 Use luvas de proteção/roupa de proteção/proteção ocular/proteção facial. P302+P352 Em caso de contato com a pele: Lave com água e sabão em abundância.
2. O Reagente 2 contém azida sódica (0,95 g/L) como conservante. Não ingerir! Evite o contato com a pele e com mucosas.
3. Os reagentes contêm material de origem animal. Manusear o produto como potencialmente infeccioso de acordo com as precauções universais e com as boas práticas de laboratório.
4. Os fármacos Paracetamol e Dipirona provocam resultados falsamente baixos em amostras de pacientes.
5. Em casos muito raros, amostras de pacientes com gamopatia podem apresentar resultados alterados¹¹.
6. Por favor, consulte a ficha de segurança e tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório. Para um diagnóstico final, os resultados devem sempre ser correlacionados com o histórico médico do paciente, exames clínicos e outros resultados.
7. Apenas para uso profissional!

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Seguir as disposições da resolução em vigor que dispõe sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

PREPARO DOS REAGENTES

Os reagentes estão prontos para uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

1. Solução NaCl 9 g/L.
2. Equipamento geral de laboratório.

AMOSTRA

Soro ou plasma heparinizado (Lítio)

Estabilidade ¹² :	2 dias	a	20 - 25 °C
	7 dias	a	4 - 8 °C
	3 meses	a	-20 °C

Descartar amostras contaminadas.
Congele somente uma vez.

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

PROCEDIMENTOS PARA O TESTE

Aplicações para sistemas automáticos estão disponíveis quando requisitadas ou em nosso site: www.kovalent.com.br

O procedimento manual pode diferir ligeiramente das aplicações para os sistemas automatizados.

Comprimento de onda 600 nm / 700 nm (dosagem bicromática)
 Caminho óptico 1 cm
 Temperatura 37 °C
 Medição Contra branco do reagente

	Branco	Amostra ou calibrador
Amostra ou calibrador	-	2,4 µL
Água destilada	2,4 µL	-
Reagente 1	240 µL	240 µL
Misturar, incubar por 5 minutos a 37°C, ler a absorbância A1, então adicionar:		
Reagente 2	60 µL	60 µL
Misturar, incubar por 5 minutos a 37°C e então ler a absorbância A2.		

$$\Delta A = [(A2 - 0,8 A1) \text{ amostra ou calibrador}] - [(A2 - 0,8 A1) \text{ branco}]$$

O fator 0,8 compensa a diminuição da absorbância pela adição do reagente 2.

O fator é calculado da seguinte forma:
 (Amostra + R1) / Volume Total

CÁLCULOS

Com calibrador

$$\text{HDL-C [mg/dl]} = \frac{\Delta A_{\text{Amostra}}}{\Delta A_{\text{Calibrador}}} \times \text{Conc. Calibrador [mg/dl]}$$

Fator de conversão

$$\text{HDL-C [mg/dL]} \times 0,02586 = \text{HDL-C [mmol/L]}$$

CALIBRADORES E CONTROLES

Para a calibração em sistemas fotométricos automatizados, o calibrador Topkal HDL/LDL Kovalent é recomendado. Para controle de qualidade interno, o controle Topkon L Kovalent deve ser medido. Cada laboratório deve estabelecer ações corretivas em caso de desvios em recuperação de controles.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as informações nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

CARACTERÍSTICAS / DESEMPENHO

Faixa de Medição

O ensaio foi desenvolvido para determinar concentrações de HDL-C dentro de uma faixa de medição de 3 - 200 mg/dL. Quando os valores excederem esta faixa, as amostras devem ser diluídas 1 + 2 com solução de NaCl (9 g/L) e o resultado multiplicado por 3.

Especificidade / Interferências

Nenhuma interferência foi observada com as seguintes substâncias nas respectivas concentrações apresentadas na tabela a seguir:

Substância interferente	Concentração
Ácido ascórbico	60 mg/dL
Bilirrubina (conjugada)	40 mg/dL
Bilirrubina (livre)	60 mg/dL
Hemoglobina	800 mg/dL
Lipemia (triglicérides)	1000 mg/dL
N-acetilcisteína (NAC)	1700 mg/dL

Para mais informações sobre substâncias interferentes vide Young DS^{13,14}.

Sensibilidade / Limite de Detecção

O limite de detecção mais baixo é 3 mg/dL.

Precisão

Precisão Intra-ensaio n = 20	Média [mg/dL]	DP [mg/dL]	CV [%]
Amostra 1	17,9	0,445	2,49
Amostra 2	44,4	0,703	1,58
Amostra 3	183	1,58	1,65

Precisão Total CLSI n = 80	Média [mg/dL]	DP [mg/dL]	CV [%]
Amostra 1	18,2	0,810	4,44
Amostra 2	45,2	1,20	2,66
Amostra 3	188	5,28	2,82

Comparação de Métodos

Comparação de Métodos (n=146)	
Teste x	Teste comercial disponível
Teste y	HDL-C Direto
Inclinação	1,02
Interseção	0,313 mg/dL
Coefficiente de correlação	0,996

**de acordo com CLSI documento EP17-A2, Vol. 32, No. 8

VALORES DE REFERÊNCIA¹⁵

Diretrizes do Programa Nacional de Educação sobre o Colesterol (NCEP):

Baixo HDL-colesterol (fator de risco maior para DAC):

< 40 mg/dL (< 1,04 mmol/L)

Alto HDL-colesterol (baixo fator de risco para DAC):

≥ 60 mg/dL (≥ 1,55 mmol/L)

Alguns fatores contribuem para a queda do nível de HDL-colesterol:

Ex. sobrepeso e obesidade, fumo, inatividade física, drogas como betabloqueadores e agentes progestacionais, fatores genéticos.

Cada laboratório deve verificar se os valores de referência podem ser utilizados na sua própria população de pacientes e determinar seus próprios valores de referência, se necessário.

LITERATURA

1. Grundy SM et al. AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. Circulation. 2018; 138: e1082-e1143.
2. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, et al. High density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four Prospective American Studies. Circulation. 1989; 79: 8-15.
3. Favari E, Chroni A, Tietge UJF et al. High Density Lipoproteins: From Biological Understanding to Clinical Exploitation. Springer Verlag; Volume 224, 2015; p. 181-206.
4. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantha-ramaiah G, Navab M and Fogelman AM (2004). Antiinflammatory properties of HDL. Circ. Res. 95.
5. Dominiczak M, McNamara J. The system of Cardiovascular prevention. 103-125; Nauk M, Wiebe D, Warnick G. Measurement of High-Density-Lipoprotein Cholesterol. 221-244. In: Handbook of Lipoprotein Testing (eds. Rifai, Warnick and Dominiczak), 2nd edition.
6. Chapman, M John et al. "Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management." European heart journal volume 32, 11 (2011): 1345-61. 764-772.
7. Rifai N, Warnick GR. Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors. In: Burtis CA, Ashwood ER and Burns DE, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 4th ed. Missouri. Elsevier Saunders company; 2006. p. 903-981.
8. Recommendation of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998; 19: 1434-503.
9. Langlois MR, Blaton VH. Historical milestones in measurement of HDLcholesterol: Impact on clinical and laboratory practice. Clin Chimica Acta 2006; 369: 168-178.
10. Miida T, Nishimura K, Okamura T, et al. Validation of homogeneous assays for HDL-cholesterol using fresh samples

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

- from healthy and diseased subjects. *Atherosclerosis* 2014; 233(1): 253-9.
11. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *ClinChemLabMed* 2007; 45(9): 1240-1243.
 12. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 22-3. HDL-c direct FS – Page 3 844 3561 10 02 00 May 2020/1
 13. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
 14. Young DS. Effects on Clinical Laboratory Tests – Drugs Disease, Herbs & Natural Products, <https://clinfx.wiley.com/aaccweb/aacc/>, accessed on May 2020. Published by AACC Press and John Wiley and Sons, Inc.
 15. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. 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(19): 2486-2497.

FABRICADO POR

Kovalent do Brasil Ltda.

Rua Cristóvão Sardinha, 110 – Jd. Bom Retiro
 São Gonçalo – RJ – CEP 24722-414 - Brasil
www.kovalent.com.br
 CNPJ: 04.842.199/0001-56

Apresentações comercializadas sob demanda:

Nº de registro	Apresentação
80115310267	R1 4x40mL + R2 4x10mL

SAC: sac@kovalent.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

Data de vencimento e nº de Lote: VIDE RÓTULO

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Símbolos Usados

-  Fabricante
-  Limites de temperatura
-  Diagnóstico in vitro
-  Cuidado, consulte documentos anexos
-  Consulte instruções de uso
-  Material Reciclável
-  Não rejeitar diretamente para o ambiente
-  Lote
-  Data de Fabricação
-  Validade
-  Risco Biológico
-  Altamente tóxico
-  Corrosivo
-  Nocivo