COLESTEROL

MÉTODO:
Enzimático Colorimétrico – COD-PAP (Trinder).

FINALIDADE:
Reagente diagnóstico para determinação quantitativa de colesterol total no soro ou plasma heparinizado humanos em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
O colesterol (COL) é um esteroide que possui uma hidroxila secundária na posição C_3. 75% do colesterol é sintetizado em diferentes tecidos, mas particularmente no fígado e paredes intestinais, e o restante obtido pela ingestão dietética. É um dos componentes de membranas celulares e um precursor de hormônios esteroidais e ácidos biliares. O colesterol é transportado no plasma por intermédio de complexos entre lipídeos e apolipoproteínas, chamados de lipoproteínas. O ensaio de colesterol é utilizado na sondagem do risco aterosclerótico e no diagnóstico e tratamento de distúrbios metabólicos. Os valores elevados do colesterol, principalmente o colesterol ligado às lipoproteínas de baixa densidade (LDL), são um dos mais importantes fatores de risco para o desenvolvimento da doença arterial coronariana.

FUNDAMENTO:
Os ésteres de colesterol são clivados pela lipoproteína lipase (LPL) formando ácidos graxos e colesterol livre. A colesterol oxidase (COD) catalisa a reação do colesterol livre com oxigênio gerando 4-colesten-3-ona e peróxido de hidrogênio. Na reação de Trinder, o peróxido reage com 4-aminoantipirina (4-AAP) e fenol gerando um indicador quinoneimina pela ação da peroxidase (POD).

$$Ésteres\ de\ clesterol + H_2O \xrightarrow{LPL} Colesterol\ livre + Ácidos\ graxos$$

$$Colesterol\ livre + O_2 \xrightarrow{COD} 4\text{-}colesten\text{-}3\text{-}ona + H_2O_2$$

$$Fenol + 4\text{-AAP} + H_2O_2 \xrightarrow{POD} Quinooneimina + 4H_2O$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

Tampão PIPES, pH 6,9	≥90	mmol/L
Fenol	≥26	mmol/L
4-Aminoantipirina	≥0,4	mmol/L
Lipoproteína lipase	≥600	U/L
Colesterol oxidase	≥300	U/L
Peroxidase	≥1500	U/L
Surfactantes e conservantes	<5,0	g/L

MODO DE USO:
O reagente está pronto para o uso e não depende de preparo.

ESTABILIDADE:
O reagente armazenado entre 2 e 8 °C é estável até a data de validade impressa no rótulo.
Não congelar! Evitar expor o reagente à luz!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 46 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 30 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- O reagente contém azida sódica como conservante. Evitar contato com a pele e mucosas. Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
O colesterol no soro ou plasma é estável por até 7 dias se conservado entre 2 e 8 °C ou por 3 meses quando congelado a -20 °C. De acordo com o Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico não há necessidade de realização de jejum de 12 h pelo paciente para exames de lipídeos. As concentrações do colesterol total, HDL-C, não-HDL-C e LDL-C não diferem significativamente nos estados pré ou pós-prandial. A obrigatoriedade do jejum prolongado deverá ser avaliada pelo médico que acompanha o paciente em casos específicos.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Bilirrubina	8 mg/dL
Hemoglobina	150 mg/dL
Triglicérides	2000 mg/dL

Mesmo em pequenas concentrações, o ácido ascórbico influencia os resultados do teste.
Resultados falsamente diminuídos podem ocorrer em pacientes com administração de paracetamol (acetominofeno), N-acetil cisteína (NAC) ou dipirona (metamizol). O efeito dessas drogas ou de seus produtos metabólicos no teste não são conhecidos em todos os casos. Em caso de dúvida recomenda-se repetir o teste após a suspensão da medicação. A medicação só pode ser descontinuada de acordo com as instruções do médico.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 505 nm (500 a 550 nm)
Temperatura: 37 ±0,5 °C
Tipo de reação: Ponto final crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	Tubos ou cubetas		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
Água	10 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	10 µL	---
Amostra	---	---	10 µL
Reagente	1000 µL	1000 µL	1000 µL

2- Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37 °C
3- Medir a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs) a 505 nm (500 a 550 nm). A cor final da reação é estável por 30 minutos.

D-Cálculo com padrão:

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{\Delta Abs_{\text{Amostra}}}{\Delta Abs_{\text{Padrão}}} \times \text{Concentração do calibrador/padrão}$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{\text{Amostra}}$: 0,298
$\Delta Abs_{\text{Padrão}}$: 0,352
Concentração do calibrador/padrão: 150 mg/dL

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{0,298}{0,352} \times 150\ \text{mg/dL}$$

Colesterol (mg/dL) = **127 mg/dL**

E-Cálculo com fator:
Pela Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser aplicado:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \Delta Abs_{\text{Amostra}} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{150\ \text{mg/dL}}{0,352}$$

Fator de calibração = 426,1
Colesterol (mg/dL) = 0,298 × 426,1
Colesterol (mg/dL) = **127 mg/dL**

COLESTEROL

VALORES DE REFERÊNCIA:

Crianças e adolescentes	Com jejum (12 horas) mg/dL	Com jejum (12 horas) mmol/L	Sem jejum mg/dL	Sem jejum mmol/L	Categoria
Colesterol total	<170	<4,40	<170	<4,40	Desejável
HDL-c	>45	<1,16	>45	<1,16	Desejável
Triglicérides					
(0 a 9 anos)	<75	<1,94	<85	<1,20	Desejável
(10 a 19 anos)	<90	<2,33	<100	<2,57	Desejável
LDL-c	<110	<2,84	<110	<2,84	Desejável
Não-HDL-c	>145	<3,75	>145	<3,75	Desejável
Adultos (>20 anos)	**Com jejum (12 horas) mg/dL**	**Com jejum (12 horas) mmol/L**	**Sem jejum mg/dL**	**Sem jejum mmol/L**	**Categoria / Risco**
Colesterol total	<190	<4,91	<190	<4,91	Desejável
HDL-c	>40	<1,03	>40	<1,03	Desejável
Triglicérides	<150	<3,88	<175	<4,53	Desejável
LDL-c	<130	<3,36	<130	<3,36	Baixo
	<100	<2,59	<100	<2,59	Intermediário
	<70	<1,81	<70	<1,81	Alto
	<50	<1,29	<50	<1,29	Muito alto
Não-HDL-c	<160	<4,14	<160	<4,14	Baixo
	<130	<3,36	<130	<3,36	Intermediário
	<100	<2,59	<100	<2,59	Alto
	<80	<2,07	<80	<2,07	Muito alto

HDL-c: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-c: colesterol não HDL.

Valores de referência e os pontos de corte de colesterol

Crianças	Desejável	<170 mg/dL	(<4,42 mmol/L)
	Limiar alto	170 – 199 mg/dL	(4,42 – 5,17 mmol/L)
	Alto	≥200 mg/dL	(≥5,20 mmol/L)
Adultos	Desejável	<200 mg/dL	(<5,20 mmol/L)
	Limiar alto	200 – 239 mg/dL	(5,20 – 6,21 mmol/L)
	Alto	≥240 mg/dL	(≥6,24 mmol/L)

Valores de Colesterol Total ≥240 mg/dL podem ser indicativos de hipercolesterolemia familiar, se descartadas as dislipidemias secundárias.

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 mg/dL = 0,026 mmol/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
A reação é linear até a concentração de 800 mg/dL (20,8 mmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
O limite inferior de detecção é 3 mg/dL (0,08 mmol/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25*	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	90,5	1,357	1,50
Amostra 2	238,3	2,194	0,92
Amostra 3	352,5	3,133	0,89

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25*	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	89,3	1,082	1,21
Amostra 2	241,6	4,194	1,74
Amostra 3	360,9	4,966	1,38

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 81 amostras comparando-se o reagente COLESTEROL (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 0{,}998x + 2{,}888$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9985

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO
COLESTEROL	VYT010307185EN	200 mL	2 x 100 mL
(Universal)	VYT010308648EN	500 mL	5 x 100 mL
COLESTEROL (BM SERIES I)	VYT010307284EN	160 mL	4 x 40 mL
	VYT010308806EN	200 mL	5 x 40 mL
	VYT010307370EN	320 mL	8 x 40 mL
COLESTEROL (BM SERIES III)	VYT010307443EN	420 mL	7 x 60 mL

ANVISA: 81692610087

BIBLIOGRAFIA:

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier (Saunders), 2015.
2. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH. AACC Press: Washington:75-97. 1997.
3. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
4. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
5. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
6. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
7. Genzen, JR et al. Clinical Biochemistry, 49(1-2), 100–104; 2016.
8. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997.
9. Faludi AA et al. Arq Bras Cardiol, 109(2Supl.1):1-76, 2017.
10. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
11. Précoma DB, et al. Updated Cardiovascular Prevention Guideline of the Brazilian Society of Cardiology – 2019. Arq. Bras. Cardiol. 2019;113(4):787-891.
12. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:
Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:


Data de Fabricação


Data de Validade


Limite de Temperatura

REF Código do Produto


Consultar Instruções de Uso

LOT Número do Lote

IVD Produto para Diagnóstico In Vitro