HDL DIRETO

MÉTODO:
Enzimático colorimétrico (Surfactante seletivo).

FINALIDADE:
Teste enzimático homogêneo para a determinação quantitativa de colesterol HDL em amostras de soro ou plasma.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
O Colesterol HDL Direto é um teste homogêneo enzimático para a determinação quantitativa de Colesterol HDL (HDL-c) em amostras de soro ou plasma. O HDL é considerado um componente lipídico protetor contra a doença coronária cardíaca (DCC). Junto com o Colesterol LDL, possui importância diagnóstica para estimar o risco individual para DCC.

FUNDAMENTO:
O teste combina três etapas específicas: na primeira etapa os quilomícrons, colesterol VLDL e colesterol LDL formam complexos os quais impedem a ação enzimática de clivagem do colesterol. Na segunda etapa, o colesterol remanescente da fração HDL é transformado em ácidos graxos e peróxido de hidrogênio pela ação específica das enzimas colesterol esterase (CHE) e colesterol oxidase (CHO) na presença de surfactantes específicos para HDL. Na terceira etapa, o peróxido de hidrogênio é reduzido pela ação da peroxidase (POD), formando quinoneimina, na reação de Trinder.

$$LDL + VLDL + Quilimicrons \xrightarrow{Surfactante\ específico} Complexs\ solúveis + HDL$$

$$HDL + H_2O + O_2 \xrightarrow{CHE\ e\ CHO} Colestenona + Ácidos\ graxos + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + F\text{-}DAOS + 4\text{-}AAP \xrightarrow{POD} Quinoneimina + H_2O$$

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

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Dextran Sulfato	<10	g/dL
Cloreto de Magnésio Hexahidratado	<5,0	g/dL
Brij 35	<10	g/dL
R2:		
Detergente	<2,0	%
PEG – Colesterol Esterase	<5,0	kU/L
PEG – Colesterol Oxidase	<5,0	kU/L
4-Aminoantipirina	<1,0	g/L
Peroxidase	<8,0	kU/L

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

ESTABILIDADE:
Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados entre 2 e 8 °C. Após abertos tem validade de 45 dias, se mantidos entre 2 a 8 °C e em ótimas condições de fechamento após uso.
Não congelar! Evitar expor o reagente à luz!

Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 67 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.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma livres de hemólise.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
O HDL 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	54 mg/dL
Hemoglobina	1260 mg/dL
Triglicérides	1062 mg/dL

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): 578 a 600 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**
R1	750 µL	750 µL	750 µL
Água	10 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	10 µL	---
Amostra	---	---	10 µL
Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37°C, então adicione:			
R2	250 µL	250 µL	250 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) entre 578 e 600 nm. A cor final da reação é estável por 15 minutos

D-Cálculo com padrão:

$$HDL\ (mg/dL) = \frac{\Delta Abs_{\ Amostra}}{\Delta Abs_{\ Padrão}} \times Concentração\ do\ Calibrador/Padrão$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{\ Amostra}$: 0,597
$\Delta Abs_{\ Padrão}$: 0,355
Concentração do calibrador/padrão: 42 mg/dL

$$HDL\ (mg/dL) = \frac{0,597}{0,355} \times 42\ mg/dL$$

HDL (mg/dL) = **71 mg/dL**

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

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

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

Exemplo:

$$Fator\ de\ calibração = \frac{42\ mg/dL}{0,355}$$

Fator de calibração = 118,3
HDL (mg/dL) = 0,597 × 118,3
HDL (mg/dL) = **71 mg/dL**

VALORES DE REFERÊNCIA:

Crianças e adolescentes	**Com jejum (12 horas)**		**Sem jejum**		**Categoria**
	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L	

HDL DIRETO

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)**		**Sem jejum**		**Categoria / Risco**
	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L	
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.

HDL baixo (principal fator de risco para doenças coronarianas): <40 mg/dL (<1.04 mmol/L)
HDL alto (fator de risco "negativo" para doenças coronarianas): ≥60 mg/dL (≥1,55 mmol/L)
Uma série de fatores contribuem para baixos níveis de colesterol HDL: por exemplo, sobrepeso e obesidade, tabagismo, inatividade física, drogas como betabloqueadores e agentes progestacionais e fatores genéticos.
Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 mg/dL = 0,0259 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 200 mg/dL (5,18 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 2,7 mg/dL (0,07 mmol/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 20*	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	24,0	0,31	1,27
Amostra 2	49,0	0,26	0,52
Amostra 3	97,7	0,64	0,65

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 20*	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	CV%
Amostra 1	27,3	0,54	2,00
Amostra 2	58,0	0,57	0,98
Amostra 3	98,6	1,34	1,36

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Foram realizados testes com 40 amostras comparando-se o reagente HDL DIRETO (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 0,9996x + 0,903$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,9910

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Calibrador HDL/LDL
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	VOLUME	CONTEÚDO	
			R1	R2
HDL DIRETO (Universal)	HMG010307246EN	40 mL	1 x 30 mL	1 x 10 mL
	HMG010308103EN	120 mL	3 x 30 mL	3 x 10 mL
HDL DIRETO (BM SERIES I)	HMG010307290EN	80 mL	2 x 30 mL	2 x 10 mL
	HMG010307857EN	160 mL	4 x 30 mL	4 x 10 mL
HDL DIRETO (BM SERIES III)	HMG010308248EN	400 mL	5 x 60 mL	5 x 20 mL

ANVISA: 81692610096

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



Código do Produto


Consultar Instruções de Uso



Número do Lote



Produto para Diagnóstico In Vitro