# LDL COLESTEROL DIRETO

**MÉTODO:**
Enzimático colorimétrico (Surfactante seletivo).

**FINALIDADE:**
Reagente diagnóstico para determinação quantitativa do colesterol LDL no soro ou plasma em sistemas fotométricos.
**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

**SIGNIFICADO CLÍNICO:**
A lipoproteína de baixa densidade (LDL) é um dos cinco principais grupos de lipoproteínas. Esses grupos, do menos denso ao mais denso, são: quilomícrons, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária (IDL), LDL e lipoproteína de alta densidade (HDL), todos eles, partículas muito menores que as células humanas. O LDL, às vezes é chamado de "colesterol ruim", carrega o colesterol do fígado para as artérias, provocando aterosclerose. Níveis elevados de LDL no sangue estão diretamente relacionados ao aumento do risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares como gangrenas, infarto e acidente vascular cerebral (AVC).

**FUNDAMENTO:**
Este método de ensaio utiliza um surfactante presente no R1 para solubilizar o colesterol não-LDL presente na amostra. A colesterol oxidase (CO) e a colesterol esterase (CE) consomem esse colesterol solubilizado em uma reação incolor. Um segundo surfactante, presente no R2, solubiliza o LDL que é hidrolisado pela CE a colesterol e ácidos graxos. A CO catalisa a oxidação desse colesterol livre formando colestenona (colest-4-en-3-ona) e peróxido de hidrogênio, que juntamente com 4-aminoantipirina (4-AAP) e TOOS, produzem a quinoneimina, numa reação catalisada pela peroxidase (POD) na reação de Trinder.

$$Colesterol\ total + Surfactante\ 1 \xrightarrow{CO+CE} LDL$$

$$LDL + Surfactante\ 2 \xrightarrow{CE} Colesterol + Ácidos\ graxos$$

$$Colesterol + O_2 \xrightarrow{CO} Colest\text{-}4\text{-}en\text{-}3\text{-}ona + H_2O_2$$

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

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

**COMPOSIÇÃO:**

| | | |
|---|---|---|
| **R1:** | | |
| Detergente polianiônico | | |
| Colesterol esterase | ≤200 | kU/L |
| Colesterol oxidase | ≤200 | kU/L |
| Peroxidase | ≤200 | kU/L |
| 4-Aminoantipirina | ≤5 | % |
| TOOS | ≤500 | mmol/L |
| **R2:** | | |
| Tampão Tris | | |
| Detergente | | |
| TOOS | ≤500 | mmol/L |

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

**ESTABILIDADE:**
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados de 2 a 8 °C.
**Não congelar! Evitar expor o reagente à luz!**

**Estabilidade *on board***
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 28 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 7 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 (EDTA, heparina).

**ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:**
A estabilidade do LDL Colesterol em soro ou plasma (EDTA, heparina) é de 7 dias entre 2 e 8 °C e 12 meses a -20 °C.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

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

| | |
|---|---|
| Bilirrubina | 22,5 mg/dL |
| Hemoglobina | 900 mg/dL |
| Triglicérides | 700 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 primário (λ): 578 a 600 nm
Comprimento de onda secundário (λ): 700 a 750 nm
Temperatura: 37 ±0,5 °C
Tipo de reação: Tempo fixo 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** | 900 µL | 900 µL | 900 µL |
| **Água** | 10 µL | --- | --- |
| **Calibrador/Padrão** | --- | 10 µL | --- |
| **Amostra** | --- | --- | 10 µL |
| 2- Homogeneizar bem e incubar por 3 minutos | | | |
| 3- Medir a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs2) entre 578 e 600 nm | | | |
| 4- Adicionar: | | | |
| **R2** | 300 µL | 300 µL | 300 µL |

5- Homogeneizar bem e incubar por 10 minutos a 37 °C.
6- Medir a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs2), respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância 1. A cor final da reação é estável por 15 minutos.

**D-Cálculo com padrão:**
ΔAbs = ΔAbs1 – ΔAbs2

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

**Exemplo:**
$\Delta Abs_{Amostra}$ = 0,328
$\Delta Abs_{Padrão}$ = 0,362
Concentração do calibrador/padrão: 100 mg/dL

$$\text{LDL (mg/dL)} = \frac{0,328}{0,362} \times 100\ \text{mg/dL}$$

LDL (mg/dL) = **90,6 mg/dL**

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

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

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

**Exemplo:**
Fator de calibração = $\frac{100\ \text{mg/dL}}{}$

# LDL COLESTEROL DIRETO

$$\frac{}{0,362}$$

Fator de calibração = 276,2
LDL Colesterol (mg/dL) = 0,328 × 276,2
LDL Colesterol (mg/dL) = **90,6 mg/dL**

**VALORES DE REFERÊNCIA:**

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

HDL-c: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-c: colesterol não HDL.
* Valores para LDL-c calculado pela fórmula de Martin: LDL-c = CT – HDL-c – TG/x, onde x varia de 3,1 a 11,9.

Valores de referência de LDL e a relação com o risco de desenvolvimento de doença cardiovascular

| | mg/dL | mmol/L | Categoria / Risco |
|---|---|---|---|
| Adultos | <100 | <2,85 | Baixo |
| | <130 | <3,37 | Limiar baixo |
| | 130 a 159 | 3,37 a 4,12 | Limiar alto |
| | 160 a 189 | 4,14 a 4,90 | Alto |
| | ≥190 | ≥4,92 | Muito alto |
| Crianças | <110 | <2,85 | Baixo |
| | 110 a 129 | 2,85 a 3,34 | Limiar |
| | ≥130 | ≥3,37 | Alto |

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 bioquímicos está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

**LINEARIDADE:**
A reação é linear até a concentração de 600 mg/dL (15,54 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 3,0 mg/dL (0,0777 mmol/L).

**PRECISÃO:**
**Repetibilidade:**
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

| INTRAENSAIO *n = 20* | Média (mg/dL) | Desvio padrão (mg/dL) | CV% |
|---|---|---|---|
| Amostra 1 | 51,7 | 1,00 | 1,93 |
| Amostra 2 | 96,0 | 0,82 | 0,85 |

**Reprodutibilidade:**
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 4 dias consecutivos, utilizando 2 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

| INTERENSAIO *n = 20* | Média (mg/dL) | Desvio padrão (mg/dL) | CV% |
|---|---|---|---|
| Amostra 1 | 81,6 | 0,62 | 0,75 |
| Amostra 2 | 118,0 | 1,03 | 0,88 |

**COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:**
Foram realizados testes com 40 amostras comparando-se o reagente LDL COLESTEROL DIRETO (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:

$y = 1,0083x + 0,7041$ coeficiente de correlação ($r$-Pearson) = 0,9903

**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 |
| **LDL COLESTEROL DIRETO** (Universal) | HMG010307247EN | 40 mL | 1 x 30 mL | 1 x 10 mL |
| | HMG010308113EN | 120 mL | 3 x 30 mL | 3 x 10 mL |
| **LDL COLESTEROL DIRETO** (BM SERIES I) | HMG010308257EN | 40 mL | 1 x 30 mL | 1 x 10 mL |
| **LDL COLESTEROL DIRETO** (BM SERIES III) | HMG010308261EN | 80 mL | 1 x 60 mL | 1 x 20 mL |

**ANVISA: 81692610185**

**BIBLIOGRAFIA:**

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier (Saunders), 2015.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
4. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
5. Genzen, JR et al. Clinical Biochemistry, 49(1-2), 100–104; 2016.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997.
7. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
8. Précoma DB, et al. Updated Cardiovascular Prevention Guideline of the Brazilian Society of Cardiology – 2019. Arq. Bras. Cardiol. 2019;113(4):787-891.
9. 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