



COLESTEROL HDL ENZIMÁTICO

REF **K015**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação do Colesterol HDL. Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimático -Trinder

As Lipoproteínas VLDL (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade) e LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade) e os Quilomícrons são precipitados com a mistura de Ácido Fosfotúngstico e Cloreto de Magnésio. Após centrifugação, o Colesterol ligado a Lipoproteínas de Alta Densidade (HDL) é determinado no sobrenadante por método colorimétrico enzimático.

REAGENTES

Número 1 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Contém Colesterol 40 mg/dL e n-Butanol P.A.

Número 2 - Reagente Precipitante - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Fosfotúngstico 1,5 mmol/L e Cloreto de Magnésio 100 mmol/L.

APRESENTAÇÃO

Reagentes	Volume
Nº 1	2 mL
Nº 2	25 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37°C, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, kit de Colesterol Monoreagente, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte, em temperaturas entre 15 e 30°C, não deverá exceder 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio.
- O uso do Reagente Enzimático do kit Colesterol Monoreagente da **Bioclin** é de fundamental importância para uma boa performance do sistema.
- Determinar o fator periodicamente e a cada lote do produto.
- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos)

disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

10- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
11- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, colhido após jejum de 12 a 14 horas. O Colesterol HDL é estável no soro por 7 dias entre 15 e 30°C e 14 dias entre 2 e 8°C.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar o kit Colesterol Monoreagente (Reagente Enzimático*) e como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

Precipitação das VLDL, LDL e quilomícrons.

Em tubo de centrifuga, pipetar:

Soro 250 µL

Reagente Precipitante Nº 2 250 µL

Agitar no Vortex ou manualmente durante 1 minuto. Centrifugar a 3500 rpm durante 15 minutos. Esta etapa é de fundamental importância para obtenção de resultado correto. O sobrenadante límpido contém Colesterol HDL e deve ser pipetado imediatamente após a centrifugação, para evitar resultado falsamente elevado.

Determinação do Colesterol HDL

Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Sobrenadante	---	---	50 µL
Reagente Nº 1	---	50 µL	---
Reagente Enzimático*	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 500 nm (490 - 540 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

CÁLCULOS

Como na realização da técnica o soro é diluído 1:2 com o Reagente Precipitante, necessita-se corrigir essa diluição para obtenção de resultados corretos. Para isso, na realização dos cálculos, o valor do padrão é corrigido para o dobro de sua concentração real, ou seja, 80 mg/dL.

$$\text{HDL (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da Amostra} \times 80}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o método do Fator de Calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{80}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbância do Teste} \times \text{Fator de Calibração}$$

A concentração do Colesterol VLDL e LDL pode ser calculada segundo a equação de Friedewald. Este cálculo poderá ser utilizado para amostras cuja concentração de Triglicérides não ultrapasse 400 mg/dL.

$$\text{Colesterol VLDL} = \text{Triglicérides} / 5$$

$$\text{Colesterol LDL} = \text{Colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

Para amostra lipêmica ou com sobrenadante turvo, diluir a amostra 1:2 com Cloreto de Sódio 0,85% e repetir a precipitação. Multiplicar o resultado obtido por 2. Se o sobrenadante permanecer turvo, a amostra não poderá ser utilizada.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Manter sempre a relação de 1:1 entre a Amostra e o Precipitante. Algumas substâncias, como o Ácido Ascórbico, Hemoglobina acima de 150 mg/dL, Bilirrubina acima de 20 mg/dL e Triglicérides acima de 600 mg/dL, interferem na reação.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

O padrão do kit é rastreável ao material de referência SRM 1951 do NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência, em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Colesterol HDL em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Adultos (≥ 20 anos)	Desejável	> 60 mg/dL
	Limite	40 - 60 mg/dL
	Baixo	< 40 mg/dL

Crianças e Adolescentes (2 a 19 anos)	Desejável	> 45 mg/dL
---------------------------------------	-----------	------------

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO**CONTROLE DE QUALIDADE****Exatidão****COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA**

O kit Colesterol HDL Enzimático foi comparado com outro kit para dosagem de Colesterol HDL, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 1,029X - 2,114$, com coeficiente de correlação linear igual a 0,999. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão**REPETIBILIDADE**

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

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	35,15	50,70	70,75
Desvio Padrão (mg/dL)	0,67	0,73	0,72
Coefficiente de Variação (%)	1,91	1,45	1,01

REPRODUTIBILIDADE

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

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	34,90	50,72	70,77
Desvio Padrão (mg/dL)	0,22	0,03	0,03
Coefficiente de Variação (%)	0,62	0,06	0,04

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta de Colesterol HDL. A média encontrada foi 1,3307 mg/dL, com desvio padrão de 0,0005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 1,3321 mg/dL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A determinação das Lipoproteínas de Alta Densidade (HDL) e das Lipoproteínas de Baixa Densidade (LDL) desempenham papel importante na prevenção e terapia de cardiopatias coronarianas. As HDL são capazes de captar o Colesterol dos tecidos periféricos e reconduzi-lo ao fígado a fim de degradá-lo e excretá-lo. Este mecanismo, denominado transporte reverso do Colesterol, constitui a teoria da anti-aterogenicidade do HDL, onde baixas concentrações de HDL estão diretamente relacionadas com a incidência de doenças cardiovasculares.

NÚMERO DE TESTES

100 Testes / 250 μ L de Amostra / 0,25 mL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALLAIN, C. C., and al. Clin. Chem., 1974, 20-470.
- 2 - TONKS, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, 1983.
- 3 - TRINDER, P., Ann. Clin. Biochem, 1969, 6-24.
- 4 - CARL, A. B. And EDWARD, R. A.; Tietz Textbook of Clinical Chem. 2 nd. ed.; 1994, 1002-1081.
- 5- Reunião Conjunta – Laudos Laboratoriais. SBC/DA, SBAC, SBPC/ML, SBBM; 15 de Outubro de 2013.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

EC REP OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Colesterol HDL Enzimático na ANVISA: 10269360082

Revisão: Agosto/2014

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLÂMÁVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA



COLESTEROL HDL ENZIMÁTICO

REF K015

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para la determinación del Colesterol HDL. Test enzimático colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimática -Trinder

Las Lipoproteínas VLDL (Lipoproteína de Muy Baja Densidad), la LDL (Lipoproteína de Baja Densidad) y los Quilomícrones son precipitados con la mezcla de Ácido Fosfotúngstico y Cloruro de Magnesio. Después de la centrifugación, el Colesterol ligado a las Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL) es determinado en el sobrenadante por método colorimétrico enzimático.

RECTIVOS

Número 1 - Patrón - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene Colesterol 40 mg/dL y n-Butanol P.A.

Número 2 - Reactivo Precipitante - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Fosfotúngstico 1,5 mmol/L y Cloruro de Magnesio 100 mmol/L.

PRESENTACIÓN

Reactivo	Volumen
Nº 1	2 mL
Nº 2	25 mL

EQUIPAMIENTO E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, baño maría a 37°C, reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, kit de Colesterol Monoreactivo, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte en temperaturas entre 15 y 30°C no debe exceder 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente y exenta de agentes contaminantes.
- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos, agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- El nivel de agua en el baño maría debe ser superior al nivel de los reactivos en los tubos de ensayo.
- El uso del Reactivo Enzimático del Colesterol Monorreactivo de **Bioclin** es de fundamental importancia para una buena performance del sistema.
- Determinar el factor periódicamente y a cada lote del producto.
- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la

FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

10- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
11- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero obtenido libre de hemólisis, colectado después ayuno de 12 a 14 horas. El Colesterol HDL es estable en el suero por 7 días a temperaturas entre 15 y 30°C, y 14 días a temperaturas entre 2 y 8°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar el kit Colesterol Monoreactivo (Reactivo Enzimático*) y como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

Precipitación de las VLDL, LDL y quilomícrones.

En tubo de centrifuga, pipetear:

Suero 250 µL
 Reactivo Precipitante Nº 2 250 µL

Mezclar en el Vortex o manualmente por 1 minuto. Centrifugar a 3500 rpm por 15 minutos. Esta etapa es de fundamental importancia para obtención de resultado correcto. El sobrenadante límpido contiene Colesterol HDL y debe ser pipeteado inmediatamente después de la centrifugación para evitar resultado falsamente elevado.

Determinación del Colesterol HDL

Marcar 3 tubos de ensayo: B (Blanco), M (Muestra), P (Patrón) y proceder como a seguir:

	Blanco	Patrón	Muestra
Sobrenadante	---	---	50 µL
Reactivo Nº 1	---	50 µL	---
Reactivo Enzimático*	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogenizar bien y colocar en baño maría a 37°C por 5 minutos. Leer la absorbancia de la Muestra y del Patrón en 500 nm (490 - 540 nm), ajustando el cero con el Blanco. El color es estable por 30 minutos.

CÁLCULOS

Como en la realización de la técnica el suero es diluido 1:2 con el Reactivo Precipitante, es necesario corregir esa dilución para obtención de resultados correctos. Para eso, en la realización de los cálculos, el valor del patrón es corregido para el doble de su concentración real, o sea, 80 mg/dL.

$$\text{HDL (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbancia de la Muestra}}{\text{Absorbancia del Patrón}} \times 80$$

Como la reacción sigue la Ley de Lambert-Beer, el método del Factor de Calibración puede ser usado.

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{80}{\text{Absorbancia del Patrón}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Absorbancia del Test} \times \text{Factor de Calibración}$$

La concentración del Colesterol VLDL y LDL puede ser calculada según la ecuación de Friedewald. Este cálculo podrá ser utilizado para muestras cuya concentración de Triglicéridos no pase 400 mg/dL.

$$\text{Colesterol VLDL} = \text{Triglicéridos} / 5$$

$$\text{Colesterol LDL} = \text{Colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

Para muestra lipémica o con sobrenadante turbio, diluir la muestra 1:2 con Cloruro de Sódio 0,85% y repetir la precipitación. Multiplicar el resultado obtenido por 2. Si el sobrenadante permanecer turbio, la muestra no podrá ser utilizada.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Mantener siempre a relación de 1:1 entre la Muestra y el Precipitante. Algunas substancias como el Ácido Ascórbico, Hemoglobina mayor que 150 mg/dL, Bilirrubina mayor que 20 mg/dL y Triglicéridos mayores que 600 mg/dL, interfieren en la reacción.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El patrón del kit es trazable al material de referencia SRM 1951 del NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia en mg/dL, en el presente método, fueron obtenidos por la determinación de Colesterol HDL en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino.

Adultos (≥ 20 años)	Deseable	> 60 mg/dL
	Límite	40 - 60 mg/dL
	Bajo	< 40 mg/dL

Niños y Adolescentes (2 a 19 años)	Deseable	> 45 mg/dL
--	----------	------------

Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio deberá crear su rango de valores de referencia de acuerdo con la población atendida.

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA

El kit Colesterol HDL Enzimático fue comparado con otro kit para dosificación de Colesterol HDL comercialmente disponible. Fueron realizadas 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue $Y = 1,029X - 2,114$, con coeficiente de correlación igual a 0,999. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión

REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración (mg/dL)	35,15	50,70	70,75
Desvío Patrón (mg/dL)	0,67	0,73	0,72
Coefficiente de Variación (%)	1,91	1,45	1,01

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración (mg/dL)	34,90	50,72	70,77
Desvío Patrón (mg/dL)	0,22	0,03	0,03
Coefficiente de Variación (%)	0,62	0,06	0,04

Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones de una muestra exenta del Colesterol HDL. El promedio encontrado fue 1,3307 mg/dL, con desvío patrón de 0,0005 mg/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde el promedio más 3 veces el desvío patrón, y es igual 1,3321 mg/dL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La determinación de las Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL) y de las Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL) desempeñan papel importante en la prevención y terapia de cardiopatías coronarias.

Las HDL son capaces de captar el Colesterol de los tejidos periféricos y reconducirlo al hígado para degradarlo y excretarlo. Este mecanismo denominado transporte reverso del Colesterol,

constituye la teoría de anti-aterogenicidad del HDL, onde bajas concentraciones de HDL están directamente relacionadas con la incidencia de enfermedades cardiovasculares.

NÚMERO DE PRUEBAS

100 Pruebas / 250 μ L de Muestra / 0,25 mL de Reactivo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALLAIN, C. C., and al. Clin. Chem., 1974, 20-470.
- 2 - TONKS, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, 1983.
- 3 - TRINDER, P., Ann. Clin. Biochem, 1969, 6-24.
- 4 - CARL, A. B. And EDWARD, R. A.; Tietz Textbook of Clinical Chem. 2 nd. ed.; 1994, 1002-1081.
- 5- Reunião Conjunta – Laudos Laboratoriais. SBC/DA, SBAC, SBPC/ML, SBBM; 15 de Outubro de 2013.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son probados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en la caja de presentación, si son almacenados y transportados en condiciones adecuadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit de Colesterol HDL Enzimático en la ANVISA: 10269360082

Revisión: Agosto/2014

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA
(último día del mes)



CONTROL NEGATIVO



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



RIESGO BIOLÓGICO



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



INFLAMABLE



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO



CORROSIVO



DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



MARCADO CE



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA



HDL CHOLESTEROL ENZYMATIC

REF K015

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Method for determination of HDL Cholesterol. Colorimetric enzymatic test, for *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzymatic - Trinder

The VLDL Lipoproteins (Very Low Density Lipoprotein), and LDL (Low Density Lipoprotein) and the Kilomicrons are precipitate with the mixture of Phosphotungsten Acid and Magnesium Chloride. After centrifugation, the Cholesterol binded to the High Density Lipoprotein (HDL) is determined by enzymatic colorimetric method.

REAGENTS

Number 1 - Standard - Store between 2 and 8°C. Contains: Cholesterol 40 mg/dL and n-Butanol P.A.

Number 3 - Precipitate Reagent - Store between 2 and 8°C. Contains: Phosphotungstic Acid 1,5mmol/L and Magnesium Chloride 100 mmol/L.

PRESENTATION

Reagent	Volume
Nº 1	2 mL
Nº 2	25 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometer or colorimeter, water bath at 37°C, watch or stopwatch, pipettes, test tubes, Moreagent Cholesterol kit, Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin. They can be found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 to 8°C. The transport at temperatures between 15 and 30°C should not exceed 72 (seventy two) hours. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.

2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.

3- Water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.

4- Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.

5- Water level in water bath should be above the level of reagents in test tubes.

6- The use of Enzymatic Reagent of **Bioclin** Cholesterol Monoreagent kit is of fundamental importance to a good performance of the system.

7- Determine the factor periodically in every batch of the product.

8- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

9- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

10- Do not use the product in case of damaged packaging.

11- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum obtained free of hemolyses, collected after fasting period of 12 to 14 hours. HDL Cholesterol is stable in serum for up to 7 days between 15°C and 30°C and 14 days between 2 and 8°C.

PROCESS DESCRIPTION

TECHNIQUE

Bioclin recommends, use the Monoreagent Cholesterol (Enzymatic Reagent*) kit and as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits.

Precipitation of VLDL, LDL and Kilomicrons

In a mixer tube pipette:

Serum 250 µL

Precipitant Reagent Nº 2 250 µL

Agitate in Vortex or manually during 1 minute. Centrifuge in 3500 rpm during 15 minutes. This step is of fundamental importance to obtain the correct result. The limpid supernatant contains HDL Cholesterol and shall be pipette immediately after centrifugation, to avoid wrongly elevated results.

Determination of HDL Cholesterol

Mark 3 test tubes: B (Blank), A (Sample), P (Standard), and proceed as follows:

	Blank	Standard	Sample
Supernatant	---	---	50 µL
Reagent Nº 1	---	50 µL	---
Enzymatic Reagent*	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogenize well and put it in water bath 37 °C for 5 minutes. Read the absorbance of Sample and Standard at 500 nm (490 - 540 nm), matching the zero with the Blank. The color is stable for 30 minutes.

CALCULATIONS

Since it is require for the technique the diluted serum at 1:2 with the Precipitate Reagent, it is necessary to correct this dilution to obtain the correct results. For that reason, during the calculations, the standard value is corrected to the double of its real concentration, which means, 80 mg/dL.

$$\text{HDL (mg/dL)} = \frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times 80$$

Reaction follows the Lambert-Beer Law, the calibration factor can be used.

$$\text{Calibration Factor} = \frac{(80 \text{ mg/dL})}{\text{Standard Absorbance}}$$

$$\text{mg/dL} = \text{Sample Absorbance} \times \text{Calibration Factor}$$

The VLDL and LDL Cholesterol concentration can be calculated according to the Friedewald equation. This calculation could be used for samples which Triglycerides concentration does not pass 400 mg/dL.

$$\text{VLDL Cholesterol} = \text{Triglycerides} / 5$$

$$\text{LDL Cholesterol} = \text{Cholesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

For lipemic sample or cloudy supernatant, dilute the sample 1:2 with Sodium Chloride 0,85% and repeat the precipitation. Multiply the result obtained by 2. If the supernatant remains cloudy, the sample can not be used.

PROCEDURE LIMITATIONS

Keep the ratio of 1:1 between Sample and Precipitating. Some substances, such as Ascorbic Acid, Hemoglobin above 150 mg/dL, Bilirubin above 20 mg/dL and Triglycerides above 600 mg/dL, interfere with the reaction.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present an analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit's standard is traceable to the reference material NIST (National Institute of Standards and Technology) SRM 1951.

REFERENCE VALUES

The reference values in mg/dL, for this method, were obtained through the determination of HDL Cholesterol in healthy populations of male and female.

Adults (≥ 20 years)	Desirable	> 60 mg/dL
	Limit	40 - 60 mg/dL
	Low	< 40 mg/dL

Childrens and Adolescents (2 to 19 years)	Desirable	> 45 mg/dL
--	-----------	------------

These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE**QUALITY CONTROL****Accuracy****COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY**

The HDL Cholesterol Enzymatic kit was compared with another commercially available kit of measurement of HDL Cholesterol. 7 analyses were conducted and the results were evaluated, obtaining the linear equation of $Y = 1,029X - 2,114$ with a linear correlation coefficient of 0,999. With these results we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

PRECISION**REPEATABILITY**

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration (mg/dL)	35,15	50,70	70,75
Standard Deviation (mg/dL)	0,67	0,73	0,72
Coefficient of Variation (%)	1,91	1,45	1,01

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration (mg/dL)	34,90	50,72	70,77
Standard Deviation (mg/dL)	0,22	0,03	0,03
Coefficient of Variation (%)	0,62	0,06	0,04

Sensitivity

The sensitivity was calculated from 20 determinations of a sample free of HDL Cholesterol. The average found was 1,3307 mg/dL, with standard deviation of 0,0005 mg/dL. The sensitivity, that indicates the method detection limit, corresponds the average plus 3 times the standard deviation, and is equal to 1,3321 mg/dL.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The determination of High Density Lipoproteins (HDL) and Low Density Lipoprotein (LDL) play an important role in prevention and therapy of coronary heart disease.

The HDL are capable of captating the Cholesterol of the ppheriferal tissue and reconducting to the liver in order to degradate and excrement it. This mechanism denominated reverse transport of Cholesterol, constitute the theory of HDL anti-atherogenicity, where low concentration of HDL are directly related with the incidence of cardiovascular diseases.

NUMBER OF TESTS

100 Tests / 250 μ L of Sample / 0,25 mL of Reagent

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1 - ALLAIN, C. C., and al. Clin. Chem., 1974, 20-470.
- 2 - TONKS, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, 1983.
- 3 - TRINDER, P., Ann. Clin. Biochem, 1969, 6-24.

4 - CARL, A. B. And EDWARD, R. A.; Tietz Textbook of Clinical Chem. 2 nd. ed.; 1994, 1002-1081. 5- Reunião Conjunta – Laudos Laboratoriais. SBC/DA, SBAC, SBPC/ML, SBBM; 15 de Outubro de 2013.

5- Reunião Conjunta – Laudos Laboratoriais. SBC/DA, SBAC, SBPC/ML, SBBM; 15 de Outubro de 2013.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.

**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca

CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil

Phone: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455

E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

EC REP **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53

1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

Phone.: 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for HDL Cholesterol Enzymatic kit: 10269360082

Review: August/2014

UNIVERSAL SYMBOLOGY

CATALOG NUMBER



MANUFACTURED BY



BATCH CODE



CONTROL



DATE OF MANUFACTURE



POSITIVE CONTROL



USED BY
(last day of month)



NEGATIVE CONTROL



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



BIOLOGICAL RISK



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



INFLAMMABLE



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



CORROSIVE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



POISON



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



CE MARK



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED