

# COLESTEROL Liquiform

Instruções de Uso

Ref.: 76

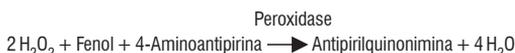
ANVISA 10009010068

**Finalidade** . Sistema enzimático para a determinação do colesterol total em amostras de soro, por reação de ponto final.

**Uso profissional.**

[Somente para uso diagnóstico *in vitro*.]

**Princípio** . O colesterol total é determinado de acordo com as seguintes reações:



Os ésteres de colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pela colesterol oxidase a colest-4-en-ona e peróxido de hidrogênio. Na presença de peroxidase e peróxido de hidrogênio, o fenol e a 4-aminoantipirina são oxidados formando a antipirilquinonimina que tem absorvidade máxima em 500 nm.

A intensidade da cor vermelha formada na reação final é diretamente proporcional à concentração do colesterol na amostra.

**Características do Sistema** . Os valores elevados do colesterol, principalmente o colesterol ligado às lipoproteínas de baixa densidade, são um dos mais importantes fatores de risco para o desenvolvimento da doença arterial coronariana. O National Cholesterol Education Program (NCEP)<sup>6</sup> recomenda que os sistemas de medição do colesterol apresentem características de desempenho capazes de atingir os requisitos de exatidão e precisão necessários para que os resultados tenham utilidade médica.

Os dados de exatidão, repetitividade e reprodutibilidade obtidos com o sistema Colesterol Liquiform demonstram que o método é capaz de fornecer resultados que superam as exigências do NCEP, fazendo com que possa ser considerado como bastante seguro para a medição confiável do colesterol total nos níveis de decisão mais importantes. Adicionalmente, a comparação entre as imprecisões encontradas na repetitividade e na reprodutibilidade demonstra que o sistema de medição é bastante robusto nas regiões de concentrações significativas para uso clínico, indicando um desempenho estável no dia a dia.

O sistema é composto de um único reagente pronto para uso, com estabilidade que garante desempenho consistente em sua forma líquida original e manutenção das condições ótimas da reação.

Colesterol Liquiform possui um sistema clarificador de alta eficiência que elimina as interferências positivas produzidas por valores de triglicérides até 2600 mg/dL.

O sistema é facilmente aplicável em analisadores automáticos e semiautomáticos capazes de medir uma reação de ponto final em 500 nm e pode ser usado para medição do colesterol HDL após precipitação seletiva das LDL e VLDL.

**Metodologia** . Enzimático-Trinder.

## Reagentes

### 1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Contém tampão  $\leq 100$  mmol/L, pH 7,0; fenol  $\leq 24$  mmol/L; colato de sódio 0,005 - 0,05%; azida sódica 14,6 mmol/L; 4-aminoantipirina 300 - 500  $\mu$ mol/L; colesterol esterase 250 - 1000 U/L; colesterol oxidase 250 - 1000 U/L, peroxidase 250 - 1000 U/L, cofator, estabilizadores e surfactantes.

Para preservar o desempenho, o reagente deve permanecer fora da geladeira somente o tempo necessário para se obter o volume a ser utilizado. Evitar exposição à luz solar direta.

### 2. [CAL] - Padrão - 200 mg/dL - Armazenar entre 2 - 30 °C.

Contém colesterol 200 mg/dL, estabilizador, surfactante e conservante. Após o manuseio sugere-se armazenar bem vedado para evitar evaporação.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos à contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

## Precauções e cuidados especiais

Não utilizar o Reagente 1 quando sua absorvância, medida contra a água em 500 nm, for igual ou maior que 0,300 ou quando mostrar-se turvo ou com sinais de contaminação.

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. O Reagente 1 e o Padrão contém azida sódica que é tóxica. Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão e no caso de contato com os olhos deve-se lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar

compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar o reagente.

## Material necessário e não fornecido

1. Banho-maria mantido à temperatura constante (37 °C).
2. Fotômetro capaz de medir, com exatidão, a absorvância entre 490 e 510 nm.
3. Pipetas para medir amostras e reagente.
4. Cronômetro.

**Influências Pré-analíticas** . A postura durante a coleta da amostra deve ser padronizada porque pode ter efeitos significativos nos resultados. Se as amostras são obtidas com o paciente na posição sentada, deve-se padronizar para que o indivíduo esteja sentado durante 15 minutos e não mais que 30 minutos.

Um garroteamento maior que 1 minuto produz hemoconcentração, o que pode aumentar os valores do colesterol em 5,0 % após 2 minutos e 10,0 a 15,0 % após 5 minutos. Portanto, é muito importante obter a amostra de sangue após liberar o torniquete devendo-se padronizar todo o procedimento da coleta.

A Variação Biológica do colesterol, decorrente da variação também biológica das lipoproteínas transportadoras do colesterol, é observada quando a dosagem do colesterol é repetida em um mesmo laboratório no espaço mínimo de uma semana. Ela ocorre independentemente do erro analítico e pode variar entre 1,7 e 11,6 % com uma média de 6,1 % devido, principalmente, à Variação Biológica da LDL que é a principal lipoproteína transportadora de colesterol.

Níveis elevados de ascorbato (vitamina C) produzem interferências negativas por competição com o cromogênio na reação da peroxidase. Se houver suspeita da presença de ácido ascórbico deixar o soro em repouso durante 90 minutos antes de iniciar a dosagem para minimizar a ação do interferente.

## Amostra

Usar soro. Anticoagulantes como citrato, oxalato ou EDTA produzem resultados falsamente diminuídos. O analito é estável 7 dias entre 2 - 8 °C e 6 meses a 20 °C negativos<sup>6</sup>. Homogeneizar bem as amostras lipêmicas antes de iniciar a dosagem. Não utilizar amostras fortemente hemolisadas.

Como o volume de amostra é pequeno, deve-se pipetar com cuidado para minimizar a imprecisão do sistema de medição.

De acordo com o Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico não há obrigatoriedade de realização de jejum de doze horas pelo paciente para a determinação de lipídeos. As concentrações de colesterol total, HDL-C, não-HDL-C e LDL-C não diferem significativamente se realizados em estado pós - prandial ou em jejum.<sup>12</sup>

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e

armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las, devem-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico, sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

## Interferências

Valores de bilirrubina até 5 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL e triglicérides até 2600 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de bilirrubina entre 5 e 38 mg/dL produzem resultados falsamente diminuídos proporcionais à concentração da bilirrubina.

Para avaliar a concentração aproximada da hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: Diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85 %) e medir a absorvância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

$$\text{Hemoglobina(mg/dL)} \equiv \text{Absorvância}_{405} \times 601$$
$$\text{Hemoglobina(mg/dL)} \equiv \text{Absorvância}_{415} \times 467$$

## Procedimento

Ver observações 1, 2 e 3.

Tomar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	-----	0,01 mL	-----
Padrão (Nº 2)	-----	-----	0,01 mL
Reagente 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Misturar e incubar em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos. O nível de água no banho deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio. Determinar as absorvâncias do teste e padrão em 500 nm ou filtro verde (490 a 510), acertando o zero com o branco. A cor é estável por 60 minutos.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado.

Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculo se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

## Cálculos

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 200$$

### Exemplo

Absorbância do Teste = 0,290  
Absorbância do Padrão = 0,345

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = \frac{0,290}{0,345} \times 200 = 168$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, pode-se utilizar o método do Fator de Calibração.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{200}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

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

### Exemplo

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{200}{0,345} = 580$$

$$\text{Colesterol (mg/dL)} = 0,290 \times 580 = 168$$

## Calibração

### Rastreabilidade do sistema

O padrão é rastreável ao *Standard Reference Material (SRM) 911* do *National Institute of Standards and Technology (NIST)*.

### Calibrações manuais

Utilizar o padrão do kit Ref. 76.2 ou obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes, quando o controle interno da qualidade indicar.

### Sistemas automáticos

Branco de reagentes: água deionizada ou destilada, ou solução de cloreto de sódio 150 mmol/L (0,85 %);  
Calibrador: usar calibrador protéico. A concentração de Colesterol no calibrador da linha Calibra Labtest é rastreável ao SRM 917 do NIST.

### Intervalo de calibrações

Calibração ao mudar de lote ou quando o controle interno da qualidade indicar.

## Linearidade

O resultado da medição é linear até 500 mg/dL. Quando for obtido um valor igual ou maior que 500 mg/dL, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85 %), realizar nova medição e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

Diluir a amostra de tal modo que o valor encontrado se situe entre 150 e 300 mg/dL. Sugerimos a verificação da linearidade metodológica e

fotométrica, no mínimo semestralmente, utilizando amostras com valores até 500 mg/dL.

**Controle interno da qualidade** . O laboratório deve manter um programa de controle da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de controle, ações corretivas e registro das atividades.

Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e/ou desvios da calibração. Sugere-se procurar atender como limites máximos de controle as especificações propostas por NCEP<sup>10</sup> para coeficiente de variação  $\leq 3,00\%$ , erro sistemático (bias)  $\leq \pm 3,00\%$  e erro total  $\leq 9,0\%$ .

Sugere-se utilizar as preparações estabilizadas da linha Qualitrol - Labtest para controle interno da qualidade em ensaios de química clínica.

**Valores referenciais do perfil lipídico<sup>12,13</sup>** . Os valores referenciais e de alvo para perfil lipídico, para adultos maiores de 20 anos, são apresentados de acordo com o estado metabólico do paciente que precede a coleta da amostra, sem jejum e com jejum de 12 horas.

Valores referenciais e de alvo terapêutico conforme avaliação de risco cardiovascular estimado pelo médico solicitante do perfil lipídico para adultos > 20 anos.

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)	Categoria referencial
Colesterol Total*	< 190	< 190	Desejável

\*CT > 310 mg/dL há probabilidade de Hipercolesterolemia Familiar.

Valores referenciais desejáveis do perfil lipídico para crianças e adolescentes.

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)
Colesterol Total*	< 170	< 170

\*CT > 230 mg/dL há probabilidade de Hipercolesterolemia Familiar.

## Conversão para unidades internacionais

**HDL Colesterol:** Unidades convencionais (mg/dL) x 0,026 = SI (mmol/L)

## Características do desempenho<sup>11</sup>

**Exatidão** . O método proposto foi comparado com um método similar utilizando 20 amostras com valores situados entre 112 e 357 mg/dL. A comparação resultou na equação da regressão:  $y = 11,93 + 0,984x$  e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,996.

O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado na concentração de 250 mg/dL foi igual a 3,17 %. Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes ambulatoriais, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

## Repetitividade - Imprecisão intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	71	1,01	1,4
Amostra 2	20	115	2,69	2,3

## Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	71	1,87	2,6
Amostra 2	20	115	3,03	2,6

**Sensibilidade metodológica** . Uma amostra proteica não contendo colesterol foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio tendo sido encontrado um valor igual a 1,80 mg/dL, equivalente a média de 10 ensaios mais três desvios padrão.

**Efeitos da diluição da matriz** . Duas amostras com valores iguais a 330 e 400 mg/dL foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85 %). Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 8 encontraram-se recuperações entre 99 e 113 %.

**Significado clínico** . O grande dilema da aterosclerose é que ela é um processo silente. Está ativa em todos os indivíduos e permanece sem qualquer manifestação por décadas e, subitamente se manifesta através de dor torácica, infarto agudo do miocárdio ou morte súbita.

Estudos populacionais longitudinais como os de Tecumset, Albany, Framingham, Evans, Chicago, Oslo entre outros, e também dados epidemiológicos e estudos experimentais em animais, demonstraram uma correlação positiva entre os níveis de colesterol, mais especificamente do colesterol LDL e o risco de doença arterial coronariana (DAC). Ao mesmo tempo foi evidenciado que os níveis de colesterol HDL são inversamente proporcionais ao risco de DAC.

Valores aumentados de colesterol são encontrados na nefrose, hipotireoidismo, doenças colestáticas do fígado e nas hiperlipoproteinemias dos tipos IIa, IIb e III.

Níveis diminuídos são encontrados no hipertireoidismo, doenças consumptivas e desnutrição crônica.

Além do nível do colesterol sérico, a hipertensão e o fumo constituem fatores de risco de aterosclerose e DAC.

## Observações

**1.** A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

**2.** A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq 1$  megaohm.cm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens/cm e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  megaohms ou

condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre a produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

**3.** Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 3<sup>rd</sup> ed, Washington: AACC Press, 1990.

## Referências

1. Alain CA, Poon LS, Cahn CSG, Richmond W, Fu PC. Clin Chem 1974;20:470.
2. Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, 3<sup>rd</sup> ed, Verlag Chemie:Weinhein, 1984;8:141-8.
3. Bull Org Mond Santé. 1970;43:891.
4. Fredrickson DS, Levy RJ, Lee RS. New Engl J Med 1967; 276:24, 94, 148, 215, 276.
5. Good NE, Winger GD, Winter W, Connolly TN, Izawa S, Singh RMM. Biochemistry 1966;5:467.
6. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH. Handbook of lipoprotein testing. AACC Press: Washington, 1997:75-97.
7. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostics Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
8. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
9. Leite PF, Martinez TLR, Halpern A, Cendoroglo MS, Novazzi JP, Fonseca FAH, Dias JCA. Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento. São Paulo: Loyola, 1994. P.56.
10. 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;285:2486-97.
11. Labtest: Dados de Arquivo.
12. Consenso Brasileiro para a Normatização da Determinação Laboratorial do Perfil Lipídico, 2016.
13. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al; European Atherosclerosis Society (EAS) and the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) joint consensus initiative. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications

including flagging at desirable concentration cut-points-a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Eur. Heart J. 2016,37(25):1944-58.

## Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo
Colesterol Liquiform	76-2/100	 2 X 100 mL
		 1 X 5 mL
	76-2/250	 2 X 250 mL
		 1 X 5 mL
Colesterol Liquiform Labmax 560/400	76-4/70	 4 X 70 mL
		 1 X 5 mL

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br) ou entre em contato com o SAC.

O número de testes para sistemas automáticos depende dos parâmetros programados.

Consulte disponibilidade de aplicações com o SAC.

## Informações ao consumidor

### [Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

### **Labtest Diagnóstica S.A.**

CNPJ: 16.516.296/0001-38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152  
Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

**Serviço de Apoio ao Cliente** | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)  
e-mail: [sac@labtest.com.br](mailto:sac@labtest.com.br)

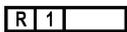
Edição: Março, 2000  
Revisão: Setembro, 2022  
Ref.: 030223(02)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.  
Reprodução sob prévia autorização

# Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	<b>Conteúdo suficiente para &lt; n &gt; testes</b> Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		<b>Risco biológico</b> Riesgo biológico Biological risk
	<b>Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa)</b> Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		<b>Corrosivo</b> Corrosivo Corrosive
	<b>Limite de temperatura (conservar a)</b> Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		<b>Tóxico</b> Tóxico Poison
	<b>Representante Autorizado na Comunidade Europeia</b> Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		<b>Marca CE</b> Marcado CE CE Mark
	<b>Instalar até</b> Instalar hasta Install before		<b>Fabricado em</b> Elaborado en Manufactured on
	<b>Produto de uso único</b> Producto de un solo uso Single use product		<b>Fabricado por</b> Elaborado por Manufactured by
	<b>Consultar instruções de uso</b> Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		<b>Período após abertura</b> Período post-abertura Period after-opening
	<b>Tóxico para os organismos aquáticos</b> Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		<b>Uso veterinário</b> Uso veterinario Veterinary use
	<b>Gases/líquidos combustíveis</b> Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		<b>Reagente</b> Reactivo Reagent
	<b>Atenção</b> Atención Attention		<b>Número do lote</b> Denominación de lote Batch code
	<b>Material Calibrador/Padrão</b> Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		<b>Número do catálogo</b> Número de catálogo Catalog Number
	<b>Produto diagnóstico in vitro</b> Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		<b>Control</b> Control Control
	<b>Liofilizado</b> Liofilizado Lyophilized		<b>Control negativo</b> Control negativo Negative control
	<b>Reagente</b> Reactivo Reagent		<b>Control positivo</b> Control positivo Positive control
	<b>Reagente contendo micropartículas</b> Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		

Ref.: 190523 |