

# Cholesterol Gen.2

## Colesterol, 2ª geração

### Informações para encomenda

COBAS INTEGRA Cholesterol Gen.2	400 testes	Ref. 03039773 190 System-ID 07 6726 3
Calibrator f.a.s.	12 × 3 ml	Ref. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (para EUA)	12 × 3 ml	Ref. 10759350 360 System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 × 5 ml	Ref. 10171743 122 System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 × 5 ml	Ref. 10171778 122 System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 × 3 ml	Ref. 12149435 122 System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 × 3 ml	Ref. 12149443 122 System-ID 07 8000 6
Precinorm L	4 × 3 ml	Ref. 10781827 122 System-ID 07 9026 5
Precipath L	4 × 3 ml	Ref. 11285874 122 System-ID 07 9500 3

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizada a cassette

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

### Função

A cassette COBAS INTEGRA Cholesterol Gen.2 (CHOL2) contém um sistema de reagentes para diagnóstico in vitro, para utilização nos sistemas COBAS INTEGRA, com vista à determinação quantitativa do colesterol total em soro e plasma. Este folheto informativo descreve a aplicação para o colesterol total (teste CHOL2, 0-586).

### Características

O colesterol é um esteroide com um grupo hidroxílico secundário na posição C3. É sintetizado em muitos tipos de tecido, mas sobretudo no fígado e parede intestinal. Cerca de três quartos do colesterol é formado por síntese e um quarto tem origem na dieta alimentar. As determinações do colesterol são utilizadas para a despistagem do risco aterogénico e no diagnóstico e tratamento de doenças que envolvem níveis elevados de colesterol, bem como de perturbações do metabolismo lipídico e lipoproteico.

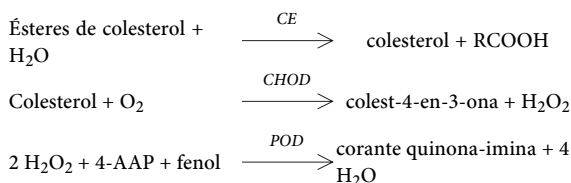
A análise do colesterol foi descrita pela 1ª vez por Liebermann em 1885, e mais tarde por Burchard, em 1889. Na reacção Liebermann-Burchard, o colesterol forma um corante azul-esverdeado a partir de hidratos de carbono poliméricos não-saturados num meio de ácido acético/anidrido acético/ácido sulfúrico concentrado. O método de Abell e Kendall é específico do colesterol mas é tecnicamente complexo e exige o uso de reagentes corrosivos. Em 1974, Roeschlaub e Allain descreveram o primeiro método totalmente enzimático. Este método baseia-se na determinação da Δ4-colestenona após clivagem enzimática do éster de colesterol pela colesterol esterase, a conversão do colesterol pela colesterol oxidase, e a subsequente determinação do peróxido de hidrogénio formado, utilizando a reacção de Trinder. A optimização da clivagem do éster (> 99,5%) permite a padronização, utilizando padrões primários e secundários e uma comparação directa com os métodos de referência do CDC e do NIST.<sup>1-9</sup> Os resultados obtidos com amostras que não foram colhidas em jejum podem ser ligeiramente mais baixos do que os resultados obtidos em amostras que foram colhidas em jejum.<sup>10-12</sup>

O doseamento do colesterol da Roche cumpre o requisito de 1992 do National Institutes of Health (NIH), com precisão e desvio inferior ou igual a 3%.<sup>13</sup>

### Princípio do teste

Método colorimétrico enzimático.

Os ésteres de colesterol são clivados através da acção da colesterol esterase e produzem colesterol livre e ácidos gordos. A colesterol oxidase catalisa a oxidação do colesterol para colest-4-en-3-ona e peróxido de hidrogénio. Em presença da peroxidase, o peróxido de hidrogénio formado afecta o acoplamento oxidativo do fenol e da 4-aminoantipirina, formando um corante vermelho de quinona-imina.



A intensidade da cor do corante formado é directamente proporcional à concentração de colesterol. É determinada medindo o aumento da absorvância a 512 nm.

### Reagentes – soluções de trabalho

R Mono reagente no frasco A (líquido).

### Componentes activos

Componentes	Concentrações		
	R	Test	
Tampão PIPES <sup>a</sup> :	225	75	mmol/l
Mg <sup>2+</sup>	10	3,3	mmol/l
Colato de sódio	0,6	0,2	mmol/l
4-Aminoantipirina	≥0,45	0,15	mmol/l
Fenol	≥12,6	4,2	mmol/l

## INTEGRA 400/700/800

álcool gordo poliglicol éter	3	1	%
CE (pseudomonas spec.)	≥25	≥8,3	μkat/l (≥0,5 kU/l)
CHOD (E. coli)	≥7,5	≥ 2,5	μkat/l (≥0,15 kU/l)
POD (rábano)	≥12,5	≥4,1	μkat/l (≥0,25 kU/l)
pH	6,8	6,8	

a) PIPES = piperazina-N,N'-bis(ácido 2-etanessulfónico)

O reagente contém estabilizante e conservante não reactivo. Consulte a etiqueta da cassette para saber quais são os volumes de enchimento dos reagentes.

**Precauções e advertências**

Preste atenção a todas as precauções e advertências incluídas na Introdução do Capítulo 1.

**Preparação dos reagentes**

Pronto a ser utilizado.

**Conservação e estabilidade**

Validade a 2-8°C Ver o prazo de validade na cassette.

Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus

No analisador a 10-15°C 8 semanas

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800

No analisador a 8°C 8 semanas

**Colheita e preparação das amostras**

Para colheita e preparação das amostras utilize apenas tubos ou cuvetes de amostra apropriados.

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Soro.

Plasma: Plasma tratado com heparina-Li ou K<sub>3</sub>-EDTA.

(A utilização de plasma com EDTA dá origem a valores ligeiramente mais baixos).

Não utilize plasma tratado com citrato, oxalato ou fluoreto.

Podem ser utilizadas amostras colhidas com e sem jejum.<sup>11</sup>

Quando utilizar amostras em tubos primários, consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Estabilidade:<sup>14,15</sup> 7 dias a 15-25°C

7 dias a 2-8°C

3 meses a (-15)-(-25)°C

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio.

**Materiais fornecidos**

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

**Realização do ensaio**

Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter instruções mais específicas sobre o ensaio feito neste analisador.

**Aplicação para soro e plasma****Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R-S
Sentido da reacção	Increase
Comprimento de onda A/B	512/659 nm
Primeiro/último cálc.	17/69
Intervalo do teste	0-20,7 mmol/l (0-800 mg/dl)
com pós-diluição	0-207 mmol/l (0-8.000 mg/dl)
Factor pós-diluição	10 (recomendado)
Unidade	mmol/l

**Parâmetros de pipetagem**

R	47 μl	Diluyente (H <sub>2</sub> O)	70 μl
Amostra	2 μl		23 μl
Volume total	142 μl		

**Analísadores COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste**

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R-S
Sentido da reacção	Increase
Comprimento de onda A/B	512/659 nm
Primeiro/último cálc.	17/98
Intervalo do teste	0-20,7 mmol/l (0-800 mg/dl)
com pós-diluição	0-207 mmol/l (0-8.000 mg/dl)
Factor pós-diluição	10 (recomendado)
Unidade	mmol/l

**Parâmetros de pipetagem**

R	47 μl	Diluyente (H <sub>2</sub> O)	73 μl
Amostra	2 μl		20 μl
Volume total	142 μl		

**Calibração**

Calibrador	Calibrator f.a.s. Utilize água desionizada como calibrador zero.
Modo de calibração	Regressão linear
Repetição da calibração	Duplicado recomendado
Intervalo de calibração	Cada lote e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo de qualidade
Rastreabilidade:	Este método foi padronizado pelo ID-MS <sup>b</sup> e também de acordo com Abell-Kendall. <sup>12</sup>
	Esta padronização está em conformidade com os requisitos do National Institute of Standards and Technology (NIST).
	b) Isotope dilution - mass spectrometry

**Controlo de qualidade**

Intervalo de referência	Precinorm U, Precinorm U plus ou Precinorm L
Intervalo patológico	Precipath U, Precipath U plus ou Precipath L
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Sequência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

**Cálculo**

Os sistemas COBAS INTEGRA calculam automaticamente a concentração do analito de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analisador COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Factor de conversão: mmol/l × 38,66 = mg/dl

**Limitações - interferências**

Critério: Recuperação dentro de  $\pm 10\%$  do valor inicial.

Soro, plasma

Hemólise	Nenhuma interferência significativa até a um nível de hemoglobina de 503 $\mu\text{mol/l}$ (810 mg/dl). <sup>c</sup>
Icterícia	Nenhuma interferência significativa até a um nível de bilirrubina conjugada de 274 $\mu\text{mol/l}$ (16 mg/dl) e um nível de bilirrubina não conjugada de 188 $\mu\text{mol/l}$ (11 mg/dl). <sup>c</sup>
Lipemia	Sem interferência significativa. <sup>c</sup>
Outros	Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem), pode produzir resultados pouco fiáveis.

c) determinado em níveis de colesterol até 5,28 mmol/l

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

**Valores teóricos**

Interpretação clínica feita de acordo com as recomendações da Sociedade Europeia de Aterosclerose.<sup>16</sup>

	mmol/l	mg/dl	Alterações do metabolismo dos lípidos
Colesterol	<5,2	(<200)	Não
Triglicéridos	<2,3	(<200)	
Colesterol	5,2-7,8	(200-300)	Sim, se o colesterol HDL for <0,9 mmol/l (<35 mg/dl)
Colesterol	>7,8	(>300)	Sim
Triglicéridos	>2,3	(>200)	

Recomendações do Painel de Tratamento de Adultos do NCEP para os seguintes limiares de cutoff de risco para a população norte-americana:<sup>17</sup>

Nível de colesterol desejável	<5,2 mmol/l	(<201 mg/dl)
Colesterol elevado limítrofe (borderline)	5,2-6,2 mmol/l	(200-240 mg/dl)
Colesterol elevado	$\geq 6,2$ mmol/l	( $\geq 240$ mg/dl)

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

**Dados específicos sobre o desempenho<sup>12</sup>**

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

**Precisão**

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio n = 21, inter-ensaio n = 21). Obtiveram-se os seguintes resultados:

	Nível 1	Nível 2
Média	2,74 mmol/l (106 mg/dl)	6,20 mmol/l (240 mg/dl)
CV intra-ensaio	0,51%	0,81%
Média	2,61 mmol/l (101 mg/dl)	5,96 mmol/l (230 mg/dl)
CV inter-ensaio	1,9%	1,4%

**Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)**

0,003 mmol/l (0,116 mg/dl)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado 3 desvios padrão (DP) acima de uma amostra zero (amostra zero + 3 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

**Comparação dos métodos**

Os valores de colesterol das amostras de soro e plasma humanos obtidos no analisador COBAS INTEGRA 700 com a casete COBAS INTEGRA Cholesterol Gen.2 (CHOL2) foram comparados com os valores determinados por ID-MS.

ID-MS	Tamanho amostra (n) = 50
Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 0,99x + 0,04$ mmol/l	$y = 0,98x + 0,09$ mmol/l
$\tau = 0,971$	$r = 0,999$
DP (md 95) = 0,115	$Sy.x = 0,058$

Os valores variaram entre 1,51-10,94 mmol/l (58,4-423 mg/dl).

**Bibliografia**

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:
- Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
- Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
- Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
- Allain CC et al. Clin Chem 1974;20:470.
- Roeschlau P et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
- Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Clin Chem 1983;29:1075.
- Wiebe DA, Bernert JT. Clin Chem 1984;30:352.
- Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin. Chem. 1988;34:2456-2459.
- Pisani T, Gebiski CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
- Documentação da Roche Diagnostics.
- Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1995:130-131.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
- Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
- 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). NIH Publication No 01-3670; May 2001.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.

©2005 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

