

HDL-Cholesterol plus 2nd generation

Colesterol HDL plus, 2ª geração

Informações para encomenda

COBAS INTEGRA	175 Testes	Ref. 03038637 322
HDL-Cholesterol plus 2nd generation		System-ID 07 6626 7
Calibrator f.a.s. Lipids	3 × 1 mL	Ref. 12172623 122
Calibrator f.a.s. Lipids (para os EUA)	3 × 1 mL	Ref. 12172623 160 System-ID 07 6570 8
Precinorm L	4 × 3 mL	Ref. 10781827 122 System-ID 07 9026 5
Precipath HDL/LDL-C	4 × 3 mL	Ref. 11778552 122 System-ID 07 9028 1
NaCl Diluent 9%	6 × 22 mL	Ref. 20756350 322 System-ID 07 5635 0
COBAS INTEGRA Cleaner Cassette	150 Testes	Ref. 20764337 322 System-ID 07 6433 7

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizado o suporte de reagentes cobas c pack

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

Informações do sistema

COBAS INTEGRA HDL-Cholesterol plus 2nd generation (HDL_C).
Teste HDL_C, teste ID 0-201.

Função

Teste enzimático para determinação quantitativa in vitro da concentração de colesterol HDL em soro e plasma humanos, utilizando os sistemas COBAS INTEGRA.

Sumário¹

As lipoproteínas de alta densidade (HDL - High Density Lipoproteins) são responsáveis pelo transporte inverso do colesterol das células periféricas para o fígado. Aqui, o colesterol é transformado em ácidos biliares que são excretados para os intestinos através das vias biliares. É clinicamente importante monitorizar o colesterol HDL no soro, pois existe uma correlação inversa entre as concentrações séricas de colesterol HDL e o risco de doença aterosclerótica. Concentrações elevadas de colesterol HDL são protectoras contra as doenças coronárias, enquanto concentrações reduzidas deste colesterol, especialmente em conjunto com triglicéridos elevados, aumentam o risco cardiovascular.

Estão disponíveis diversos métodos para determinar o colesterol HDL, incluindo ultracentrifugação, electroforese, HPLC, e métodos baseados em precipitação. Destes, os métodos utilizados por rotina são os baseados na precipitação. O colesterol HDL começa por ser separado através da precipitação das lipoproteínas séricas que contêm a apoproteína B através da utilização de uma combinação de um polianião e de um cátion bivalente, como o sulfato de dextrano/cloreto de magnésio ou fosfotungstato/cloreto de magnésio. Estes métodos baseados na precipitação são muito demorados e não são adequados para análise automática. Existe, pois, uma grande necessidade de desenvolver um método fiável e conveniente para determinação do colesterol HDL no soro sem qualquer tratamento prévio. Têm sido propostas diversas abordagens de determinação directa do colesterol HDL no soro, incluindo o uso de partículas de

reacção magnética como as combinações polianião-metal e uso de polietilenoglicol (PEG) com anticorpos anti-apoproteína B e anti-apoproteína CIII.^{2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12}

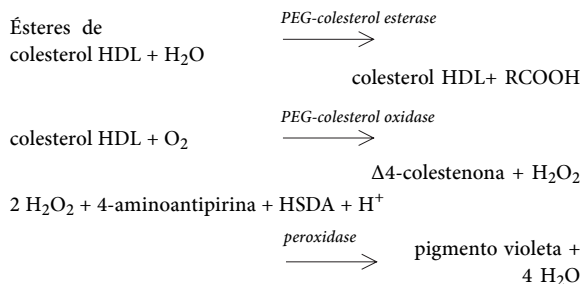
A cassette COBAS INTEGRA HDL-Cholesterol plus 2nd generation foi concebida para a determinação específica directa do colesterol HDL na presença de LDL, VLDL e quilomícrons. Não é necessária nenhuma etapa de pré-tratamento da amostra.

Princípio do teste¹³

Ensaio colorimétrico enzimático homogéneo.

Na presença de sulfato de magnésio e sulfato de dextrano, formam-se complexos solúveis em água com LDL, VLDL e quilomícrons que são resistentes às enzimas modificadas por PEG. A concentração do colesterol HDL é determinada enzimaticamente, pela colesterol esterase e colesterol oxidase acopladas com PEG aos grupos amino (cerca de 40%). Sob a influência da colesterol esterase, os ésteres de colesterol são quantitativamente decompostos em colesterol livre e ácidos gordos. Na presença de oxigénio, o colesterol é oxidado pela colesterol oxidase em Δ4-colestenona e peróxido de hidrogénio.

Este ensaio directo cumpre os objectivos do NCEP de 1995 de erro analítico total de 13%.¹⁴



A intensidade da cor do corante formado azul quinoneimina é directamente proporcional à concentração de colesterol HDL. É determinada medindo o aumento da absorvância a 583 nm.

INTEGRA 400/700/800

Reagentes - soluções de trabalho

Componentes	Concentrações			Teste	
	R1	R2 = SR			
MOPS ^a	19,1		14,1		mmol/L
Sulfato de dextrano	0,001		0,0007		mmol/L
Sulfato de magnésio · 7 H ₂ O	≥8,1		≥6,0		mmol/L
HSDA ^b	0,958		0,709		mmol/L
AOD (recombinante)	≥50		≥37		μkat/L
			(≥2,2)		kU/L
POD (rábano)	≥167	≥334	≥206		μkat/L
			(≥12)		kU/L
PIPES ^c		9,9	2,44		mmol/L
CE (microbiano)		≥3,3	≥0,8		μkat/L
			(≥0,05)		kU/L
CHOD (microbiano)		≥127	≥31		μkat/L
			(≥1,9)		kU/L
4-aminoantipirina		2,46	0,60		mmol/L
pH	7,0	7,0	7,1		

a) ácido 3-morfolino-propanossulfónico

b) N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina de sódio

c) piperazina-1,4-bis(ácido 2-etanosulfónico)

Ambos os reagentes contêm estabilizantes e um conservante.

Avisos e precauções

Preste atenção a todos os avisos e precauções incluídos na Introdução do Capítulo 1 deste folheto informativo.

Preparação dos reagentes

Pronto a ser utilizado.

A cor rosa do reagente de colesterol não interfere com o teste.

Armazenamento e estabilidade

Validade a 2-8°C: Consulte o prazo de validade no rótulo do suporte de reagentes cobas c pack

Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus
No analisador a 10-15°C 12 semanas

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800
No analisador a 8°C 12 semanas

Colheita e preparação das amostras

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

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

Soro.

Plasma: Tratado com heparina (-Li, -Na, -NH₄⁺) ou EDTA-K₃ (consulte as Limitações do procedimento).

Conserve o plasma a 4°C antes da análise. O plasma tratado com EDTA tem a vantagem de as lipoproteínas terem maior estabilidade durante a conservação a 4°C.

Podem ser utilizadas amostras colhidas em jejum ou não. Colha o sangue utilizando um tubo em vácuo ou uma seringa. As amostras devem ser analisadas, de preferência, no dia da colheita.

Os tipos de amostras indicados foram testados usando tubos de colheita de amostras seleccionados e comercialmente disponíveis à data do teste, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Estabilidade:¹⁵ 7 dias a 2-8°C

30 dias a -70°C

Após 7 a 14 dias a -20°C, o colesterol HDL diminui significativamente, mas esta diminuição não tem relevância clínica.¹⁶

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

Materiais fornecidos

Consulte a secção “Reagentes - soluções de trabalho” no relativo aos reagentes.

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- NaCl a 9% (solução salina isotónica concentrada 10 vezes) para pós-diluição automática das amostras. Utilize NaCl Diluent 9%, Ref. 20756350, System-ID 07 5635 0, ou prepare a solução de NaCl a 9% com soluções salinas concentradas ou comprimidos de cloreto de sódio à venda no mercado. A solução de NaCl ao 9% é colocada na posição predefinida no rack e permanece estável durante 28 dias estando nos analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/700/800.
- Apenas para os analisadores COBAS INTEGRA 700/800 COBAS INTEGRA Cleaner Cassette, Ref. 20764337, System-ID 07 6433 7. Recomendam-se ciclos de lavagem suplementares sempre que determinadas combinações de testes sejam executadas em conjunto nos sistemas COBAS INTEGRA. Para mais informações sobre combinações de testes que requerem ciclos de lavagem suplementares, consulte o Capítulo 1, Introdução, Parte III.

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	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	583/659 nm
Primeiro/último cálc.	33/69
Unidade	mmol/L

Parâmetros de pipetagem

	Diluyente (H ₂ O)
R1	150 μL
Amostra	2,5 μL
SR	50 μL
Volume total	202,5 μL

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste

Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	583/659 nm
Primeiro/último cálc.	44/98
Unidade	mmol/L

Parâmetros de pipetagem

	Diluyente (H ₂ O)
R1	150 μL
Amostra	2,5 μL
SR	50 μL
Volume total	202,5 μL

Calibração

Calibrador	C.f.a.s. Lipids 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 de acordo com o CDC^d (precipitação por sulfato de dextrano e de acordo com Abell-Kendall).¹⁵
d) Center for Disease Control

Controlo da qualidade

Controlo da qualidade	Precinorm L, Precipath HDL/LDL-C
Intervalo de controlo	24 horas (recomendado)
Sequência de controlo	Definida pelo utilizador
Controlo após calibração	Recomendado

Os materiais de controlo de qualidade destinam-se a ser usados apenas como indicadores de exactidão e precisão. O Laboratory Standardization Panel (LSP) do National Cholesterol Education Program nos EUA recomenda dois níveis de controlos: um no intervalo normal (0,9-1,7 mmol/L ou 35-65 mg/dL) e um próximo da concentração de decisão (<0,9 mmol/L ou <35 mg/dL).

Para o controlo da qualidade, utilize os materiais de controlo indicados na secção "Informações para encomenda". Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo dos resultados

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 (analizador COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Factor de conversão: mmol/L x 38,66 = mg/dL

Limitações¹⁷ - interferências

As directrizes do National Cholesterol Education Program (NCEP) baseiam-se em valores séricos, devendo usar-se valores séricos ou equivalentes para a classificação dos doentes. Assim, o NCEP recomenda um factor de 1,03 para converter os valores de plasma tratado com EDTA em valores séricos. No entanto, as nossas investigações revelaram que um factor de 1,06 deve ser usado para o reagente COBAS INTEGRA HDL Cholesterol plus. Para cumprir o objectivo do NCEP de 1998 de um desvio de <5%, recomendamos que cada laboratório valide este factor de conversão e o introduza nos parâmetros de teste do HDL_C (0-201).

Uma função hepática anómala afecta o metabolismo lipídico; consequentemente, os resultados de HDL e LDL têm um valor limitado em termos de diagnóstico. Em alguns doentes com alteração da função hepática, o resultado do HDL_C apresenta um desvio significativamente negativo em relação ao resultado do DCM (Designated Comparison Method).

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

Soro, plasma

Icterícia	Sem interferência significativa até um índice I de 24 (concentração aproximada de bilirrubina conjugada e não conjugada: 410 $\mu\text{mol/L}$ ou 24 mg/dL). Estes critérios baseiam-se no modelo de Glick. Consulte comentários adicionais acima (função hepática anómala).
Hemólise	Nenhuma interferência significativa até a um índice H de 1.500 (concentração aproximada de hemoglobina: 0,93 mmol/L ou 1.500 mg/dL).
Lipemia	Sem interferência significativa (modelo Glick). Sem interferência significativa dos triglicéridos nativos até 1.200 mg/dL. Existe uma correlação fraca entre a turbidez e a concentração de triglicéridos. ¹⁸
Outras	As concentrações elevadas de ácidos gordos livres e proteínas desnaturadas podem causar resultados falsamente elevados de colesterol HDL. Em casos raros, concentrações elevadas de imunoglobulina podem levar a resultados de colesterol HDL falsamente elevados. ¹⁹ Em casos muito raros, a gamapatia, em particular a de tipo IgM (macroglobulinemia de Waldenstroem), pode produzir resultados pouco fiáveis.

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

Intervalo de medição

0,08-3,12 mmol/L (3-120 mg/dL)

Intervalo de medição alargado (calculado)

Factor pós-diluição: 4

0,08-12,48 mmol/L (3-480 mg/dL)

O uso de um factor de diluição <4 não é permitido.

Limite de detecção inferior

0,08 mmol/L (3 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).

Valores de referência

	Sem risco	Risco moderado	Risco elevado
Mulheres ^{20,21,22}	>1,68 mmol/L (>65 mg/dL)	1,15-1,68 mmol/L (45-65 mg/dL)	<1,15 mmol/L (<45 mg/dL)
Homens ^{20,21,22}	>1,45 mmol/L (>55 mg/dL)	0,90-1,45 mmol/L (35-55 mg/dL)	<0,90 mmol/L (<35 mg/dL)

Directrizes do National Cholesterol Education Program (NCEP):²³

< 40 mg/dL (1,04 mmol/L): Colesterol HDL baixo (principal factor de risco de doenças cardiovasculares)

≥ 60 mg/dL (1,55 mmol/L): Colesterol HDL alto (factor de risco "negativo" de doenças cardiovasculares)

O valor do colesterol HDL é afectado por uma série de factores: tabaco, exercício físico, hormonas, sexo e idade.

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

Dados específicos sobre o desempenho¹⁵

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

Este procedimento foi certificado pela Cholesterol Reference Method Laboratory Network.

Precisão

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

	Nível 1	Nível 2
Média	0,56 mmol/L (21,7 mg/dL)	1,19 mmol/L (46,0 mg/dL)
CV intra-ensaio	0,75%	0,85%
Média	0,89 mmol/L (34,4 mg/dL)	1,42 mmol/L (54,9 mg/dL)
CV inter-ensaio	2,1%	1,7%

Comparação dos métodos

Os valores de colesterol HDL das amostras de soro e plasma humanos obtidos no analisador COBAS INTEGRA 700 com o reagente COBAS INTEGRA HDL-Cholesterol plus 2nd generation foram comparados com os valores determinados com o mesmo reagente utilizado no analisador Roche/Hitachi 917.

Os valores variaram entre 0,41 e 2,34 mmol/L (15,6-90 mg/dL).

	Analisador Roche/Hitachi 917
Tamanho da amostra (n)	55
Coefficiente corr. (r)	0,997
Regressão linear	$y = 0,97x - 0,04$ mmol/L
Passing/Bablok ²⁴	$y = 0,97x - 0,03$ mmol/L

Bibliografia

- Dominiczak MH, McNamara JR. The system of cardiovascular prevention; Nauck M, Wiebe DA, Warnick GR. Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, ed. Handbook of Lipoprotein testing. 2nd ed. Washington, DC: AACC Press 2000, chapter 6:103-125; chapter 11:221-244.
- Zawta B, Klüber J. Brochure "Wissenswertes zu Apolipoproteinen". Fragen/Antworten (Roche 1991)
- AVP Fettstoffwechselstörungen, Therapieempfehlungen 1, 1st ed. 1996:2-16.
- Hatch FT, Lees RS. Practical methods for plasma lipoprotein analysis. Adv Lipid Res 1968;6:1-68.
- Narayan KA, Kummerow FA. Disk electrophoresis of human serum lipoprotein. Nature 1965;205:246-248.
- Okazaki M, Shiraishi K, Ohno Y et al. Heterogeneity of human high density lipoproteins on high performance liquid chromatography. J Biochem 1982;92:517-524.
- Burstein M, Scholnick HR, Morfix R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. J Lipid Res 1970;11:583-595.
- Musto J, Lawlor JF. HDL-cholesterol: online separation and analysis utilizing an automated chemistry analyzer [Abstract]. Clin Chem 1993;39:1125.
- Kakuyama T, Kimura S, Hashiguchi Y. Fully automated determination of HDL-cholesterol from human serum with Hitachi 911 [Abstract]. Clin Chem 1994;40:1104.
- Harris N, Galpichian V, Rifai N. Three routine methods for measuring high-density lipoprotein cholesterol compared with the Reference method. Clin Chem 1996;42:738-743.
- 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.
- Assmann G, Schriewer H, Schmitz G et al. Quantification of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/MgCl₂. Clin Chem 1983;29:2026-2030.
- Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T et al. Direct Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol in Serum with Polyethylene Glycol-Modified Enzymes and Sulfated α -Cyclodextrin. Clin Chem 1995;41:717-723.
- Kimberly M, Leary E, Cole T, Waymack P. Selection, Validation, Standardization, and Performance of a Designated Comparison Method for HDL-Cholesterol for Use in the Cholesterol Reference Method Laboratory Network. Clin Chem 1999;45:1803-12.
- Documentação da Roche Diagnostics.
- Stein EA. Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1987:448-481.
- National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary. Clin Chem. 1995;41:1427-1433.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
- Kadri N, Douville P, Lachance P. Monoclonal Paraprotein May Interfere with the Roche Direct HDL-C Plus Assay. Letters to the editor. Clin Chem 2002;48:964.
- Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1992:208.
- Assmann G. At what levels of total low- or high-density lipoprotein cholesterol should diet/drug therapy be initiated? European guidelines. Amer J Cardiol 1990;65:11F.
- Assmann G, Schriewer H, Schmitz G et al. Quantification of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/MgCl₂. Clin Chem 1983;29:2026-2030.
- 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.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.
©2006 Roche Diagnostics.

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

