

Bioclin

HDL DIRETO

[REF] **K071**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para a determinação do Colesterol em amostras biológicas de soro ou plasma (Heparina ou EDTA). Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimático - Colorimétrico

O kit HDL Direto permite uma determinação direta sem a necessidade de precipitação prévia nem tratamento da amostra. São utilizados reagentes que realizam a dosagem seletiva do colesterol ligado ao HDL. As superfícies das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), muito baixa densidade (VLDL) e dos quilomícrons são estabilizadas pela adsorção do poliânion e não sofrem a ação das enzimas modificadas presentes no reagente. O HDL, no entanto, se solubiliza pela ação de um detergente, permitindo a ação enzimática sobre o colesterol ligado a ele. Desta forma, a intensidade da coloração formada é proporcional à concentração de colesterol HDL na amostra.

REAGENTES

Número 1 - Poliânion - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Poliânion 0,2% e 4-Aminofenazona 2,0 mmol/L.

Número 2 - Reagente Enzimático - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão 100 mmol/L (pH 7,0), DSBT 24 mmol/L, Colesterol Esterase < 300 U/L, Colesterol Oxidase < 300 U/L, Peroxidase < 1.000 U/L e detergente.

Número 3 - Calibrador - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Soro Liofilizado com valor definido de HDL. **Potencialmente infectante.**

Atenção: A concentração varia de acordo com o lote - vide rótulo do frasco.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente Nº 1	Reagente Nº 2	Reagente Nº 3
1	60 mL	20 mL	2 mL
2	240 mL	80 mL	2 mL
3	30 mL	10 mL	2 mL
4	2 x 30 mL	2 x 10 mL	2 mL
5	4 x 30 mL	4 x 10 mL	2 mL
6	6 x 30 mL	6 x 10 mL	2 mL
7	2 x 60 mL	2 x 20 mL	2 mL
8	3 x 60 mL	3 x 20 mL	2 mL
9	4 x 60 mL	4 x 20 mL	2 mL
23	60 mL	20 mL	5 mL
24	240 mL	80 mL	5 mL
25	30 mL	10 mL	5 mL
26	2 x 30 mL	2 x 10 mL	5 mL
27	4 x 30 mL	4 x 10 mL	5 mL
28	6 x 30 mL	6 x 10 mL	5 mL
29	2 x 60 mL	2 x 20 mL	5 mL
30	3 x 60 mL	3 x 20 mL	5 mL
31	4 x 60 mL	4 x 20 mL	5 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostatizado, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, banho-maria 37°C, Biocontrol N Bioclin e Biocontrol P Bioclin. Estes itens são encontrados 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 até 30°C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

2- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.

3- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.

4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

5- 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.

6- 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.

7- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

8- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com Heparina ou EDTA. Após coleta, a amostra deverá ser centrifugada em até 3 horas.

O Colesterol HDL é estável no soro por até 7 dias entre 2 e 8°C ⁶ e por 30 dias a -20°C.

Amostras armazenadas em temperatura entre 15 e 30°C tem estabilidades de no máximo 14 horas.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade de calibração do kit HDL Direto instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 21 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

PREPARO DOS REAGENTES

Antes de reconstituir o Calibrador deve-se observar o volume indicado no frasco e proceder conforme descrito abaixo.

Apresentação 1 a 9: Abrir cuidadosamente o frasco e adicionar exatamente **2 mL de água destilada**, conforme volume descrito no rótulo do frasco.

Apresentação 23 a 31: Abrir cuidadosamente o frasco e adicionar exatamente **5 mL de água destilada**, conforme volume descrito no rótulo do frasco.

Homogeneizar. Deixar o frasco em repouso por 30 minutos.

A cada 10 minutos, agitar cuidadosamente o frasco com movimentos circulares, para evitar que material fique aderido à parede do frasco. Evitar a formação de espuma.

Após a reconstituição, o calibrador é estável por 7 dias entre 2 e 8°C ou 30 dias a -20°C.

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

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

	Branco	Calibrador	Amostra
Reagente Nº 1	300 µL	300 µL	300 µL
Calibrador	---	3 µL	---
Amostra	---	---	3 µL

Homogeneizar e colocar em banho-maria 37°C por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra (A1) e do Calibrador (C1) em 550 nm (540 - 560 nm), acertando o zero com o Branco.

Reagente Nº 2	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Homogeneizar e colocar em banho-maria 37°C por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra (A2) e do Calibrador (C2) em 550 nm (540 - 560 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 60 minutos.

CÁLCULOS

$$\text{HDL Colesterol} = \frac{(A2 - A1)}{(C2 - C1)} \times \text{Concentração do Calibrador}$$

Os resultados serão expressos em mg/dL.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Não utilizar anticoagulantes que contenham citrato.

Não expor os reativos à luz.

INTERFERENTES

O Ácido Ascórbico até 100 mg/dL, Bilirrubina até 60 mg/dL, Hemoglobina até 1000 mg/dL, Gamaglobulina até 5000mg/dL e o Triglicérides até 1800 mg/dL não alteram os resultados.

Amostras com N-acetilcisteína não devem ser utilizadas.

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

VALORES DE REFERÊNCIA 7

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. Os valores de referência abaixo são para indivíduos com jejum e sem jejum de 12 horas e seguem a atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose.

Adultos ≥ 20 anos			
Lípides	Com Jejum	Sem jejum	Categoria Referencial
Colesterol Total*	< 190 mg/dL	< 190 mg/dL	Desejável
HDL-C	> 40 mg/dL	> 40 mg/dL	Desejável
Triglicérides**	< 150 mg/dL	< 175 mg/dL	Desejável
			Categoria de Risco
LDL-C	< 130 mg/dL	< 130 mg/dL	Baixo
	< 100 mg/dL	< 100 mg/dL	Intermediário
	< 70 mg/dL	< 70 mg/dL	Alto
	< 50 mg/dL	< 50 mg/dL	Muito Alto
Não-HDL-C	< 160 mg/dL	< 160 mg/dL	Baixo
	< 130 mg/dL	< 130 mg/dL	Intermediário
	< 100 mg/dL	< 100 mg/dL	Alto
	< 80 mg/dL	< 80 mg/dL	Muito Alto

Crianças e Adolescentes		
Lípides	Com Jejum	Sem jejum
Colesterol Total*	< 170 mg/dL	< 170 mg/dL
HDL-C	> 45 mg/dL	> 45 mg/dL
Triglicérides (0 – 9 Anos)**	< 75 mg/dL	< 85 mg/dL
Triglicérides (10 – 19 Anos)**	< 90 mg/dL	< 100 mg/dL
LDL-C	< 110 mg/dL	< 110 mg/dL

*Valores de Colesterol Total ≥ 310 mg/dL (adultos) ou ≥ 230 mg/dL (crianças e adolescentes) podem ser indicativos de hipercolesterolemia familiar.
** Níveis de Triglicérides (sem jejum) acima de 440 mg/dL, o médico deverá solicitar nova avaliação, desta vez com jejum de 12 horas.

Para conversão dos dados no Sistema Internacional (SI), multiplicar o resultado: mg/dL x 0,02586 = mmol/L. 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
EXATIDÃO
Recuperação

A análise de recuperação foi feita com 05 determinações de amostras. As exatidões foram calculadas e se encontraram em boa concordância com os valores de referência, obtendo uma recuperação entre 95% e 103%.

Comparação de Métodos

O kit HDL Direto foi comparado com outro método para dosagem de Colesterol HDL comercialmente disponível. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi Y = 0,989X + 0,3611 e o coeficiente de correlação 0,9987. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	16,98	26,18	21,05
Desvio Padrão (mg/dL)	0,16	0,38	0,22
Coefficiente de Variação (%)	0,93	1,47	1,05

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	16,70	26,16	21,01
Desvio Padrão (mg/dL)	0,52	0,03	0,49
Coefficiente de Variação (%)	3,12	0,11	2,33

SENSIBILIDADE

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta de Colesterol HDL. A média encontrada foi 0,66 mg/dL com desvio padrão de 0,08 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, que corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, é igual 0,91 mg/dL.

LINEARIDADE

A reação é linear de 3 até 200 mg/dL. Para valores maiores que 200 mg/dL, repetir a determinação diluindo a amostra com NaCl 0,85%. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

As lipoproteínas plasmáticas são partículas esféricas constituídas por Colesterol, Triglicérides, Fosfolípidios e Proteínas. Essas partículas são responsáveis pelo transporte de colesterol entre as células periféricas e o fígado. A proporção relativa entre proteínas e lípidios determina a densidade das lipoproteínas - quilomícrons, VLDL, LDL e HDL. A monitoração do Colesterol HDL em soro é de grande importância devido a correlação inversa entre sua concentração plasmática e o risco de enfermidades coronárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - WILLIAM, P., ROBINSON, D., BAILY, A.. High Density Lipoprotein and Coronary Risk Factor. Lancet, 1:72 (1979).
- 2 - BADIMON, J.J., BADIMON, L., FUESTER, V. Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma. Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. Journalof Clinical Investigation, 1990; 85: 1234-41.
- 3 - BARR, D.P., RUSS, E.M., EDER, H.A.. Protein-Lipid Relationships in Human Plasma. Am. J. Med., 11:480, 1951.
- 4 - GOTTO, A.M.. Lipoprotein Metabolism and Etiology of Hyperlipidemia. Hospital Practice, 23: Suppl. 1,4 1988.
- 5 - Reunião Conjunta – Laudos Laboratoriais. SBC/DA, SBAC, SBPC/ML, SBBM; 15 de Outubro de 2013.
- 6 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31
- 7 - Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afione Neto A et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. Arq Bras Cardiol 2017; 109(2Supl.1):1-76.
- 8 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

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 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

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

Número de registro do kit HDL Direto na ANVISA: 10269360122

Revisão: Julho/2022

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> TESTE		INFLÂMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERILIZADO
	CUIDADO		PERIGO

HDL DIRECTO

[REF] K071

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para determinación del Colesterol HDL en muestras biológicas de suero o plasma (Heparina o EDTA). Prueba enzimática colorimétrica, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimático - Colorimétrico

El kit HDL Directo permite una determinación directa sin la necesidad de precipitación previa ni tratamiento de la muestra. Son utilizados reactivos que realizan la dosificación selectiva del colesterol conectado al HDL. Las superficies de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), muy baja densidad (VLDL) y de los kilomicrons son estabilizados por la absorción del polianión y no sufren la acción de las enzimas modificadas presentes en el reactivo. El HDL, sin embargo, se solubiliza por la acción de un detergente, permitiendo la acción enzimática sobre el colesterol conectado a él. De esta forma, la intensidad de la coloración formada es proporcional a la concentración de colesterol HDL en la muestra.

REACTIVOS

Número 1- Polianión – Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Polianión 0,2% y 4-Aminofenazona 2,0 mmol/L.

Número 2 - Reactivo Enzimático - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Tampón 100 mmol/L (pH 7,0), DSBT 24 mmol/L, Colesterol Esterasa < 300U/L, Colesterol Oxidasa < 300 U/L, Peroxidasa < 1.000 U/L y detergente.

Número 3- Calibrador - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Suero Liofilizado con valor definido de HDL. **Potencialmente infectante**

Atención: La concentración varía de acuerdo con el lote - vide rótulo del frasco.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo N° 1	Reactivo N° 2	Reactivo N° 3
1	60 mL	20 mL	2 mL
2	240 mL	80 mL	2 mL
3	30 mL	10 mL	2 mL
4	2 x 30 mL	2 x 10 mL	2 mL
5	4 x 30 mL	4 x 10 mL	2 mL
6	6 x 30 mL	6 x 10 mL	2 mL
7	2 x 60 mL	2 x 20 mL	2 mL
8	3 x 60 mL	3 x 20 mL	2 mL
9	4 x 60 mL	4 x 20 mL	2 mL
23	60 mL	20 mL	5 mL
24	240 mL	80 mL	5 mL
25	30 mL	10 mL	5 mL
26	2 x 30 mL	2 x 10 mL	5 mL
27	4 x 30 mL	4 x 10 mL	5 mL
28	6 x 30 mL	6 x 10 mL	5 mL
29	2 x 60 mL	2 x 20 mL	5 mL
30	3 x 60 mL	3 x 20 mL	5 mL
31	4 x 60 mL	4 x 20 mL	5 mL

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro termostatzado, reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, baño maria a 37°C, Biocontrol N Bioclin y Biocontrol P Bioclin. Estos itens se encuentran en el mercado especializado en 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 hasta 30°C no deberá exceder 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.

2- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.

3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente y exenta de agentes contaminantes.

4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.

5- 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.

6- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consulta de 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.

7- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

8- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero obtenido libre de hemólisis, plasma recogido con Heparina o EDTA. Después de la recolección, la muestra debe centrifugarse en hasta 3 horas.

El Colesterol HDL es estable en el suero por hasta 7 días entre 2 y 8°C ⁶ y por 30 días a -20°C.

Las muestras almacenadas a una temperatura entre 15 y 30°C tienen estabilidades de lo máximo de 14 horas.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad de calibración del kit de HDL Directo instalado en equipos refrigerados es de al menos 21 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control.

PREPARO DEL REACTIVOS

Antes de reconstituir el Calibrador debe observarse el volumen indicado en el frasco y proceder como se describe a abajo.

Presentación 1 a 9: Abrir cuidadosamente el frasco y adicionar exactamente **2 mL de agua destilada**, como volumen descrito en la etiqueta del frasco.

Presentación 23 a 31: Abrir cuidadosamente el frasco y adicionar exactamente **5 mL de agua destilada**, como volumen descrito en la etiqueta del frasco.

Homogenizar. Dejar el frasco en reposo por 30 minutos.

A cada 10 minutos, agitar cuidadosamente el frasco con movimientos circulares, para evitar que material se quede adherido a la pared del frasco. Evitar la formación de espuma.

Después de la reconstitución, el calibrador es estable durante 7 días entre 2 y 8°C o 30 días la -20°C.

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

Marcar 3 tubos de ensayo: B (Blanco), C (Calibrador), M (Muestra) y proceder como sigue:

	Blanco	Calibrador	Muestra
Reactivo N° 1	300 µL	300 µL	300 µL
Calibrador	---	3 µL	---
Muestra	---	---	3 µL

Homogenizar y colocar en baño maria 37°C por 5 minutos. Leer la absorbancia de la Muestra (A1) y del Calibrador (C1) en 550 nm (540 - 560 nm), acertando el cero con el Blanco.

Reactivo N° 2	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Homogenizar y colocar en baño maria 37°C por 5 minutos. Leer la absorbancia de la Muestra (A2) y del Calibrador (C2) en 550 nm (540 - 560 nm), acertando el cero con el Blanco. El color es estable por 60 minutos.

CÁLCULOS

HDL Colesterol = $\frac{(A2 - A1)}{(C2 - C1)}$ x Concentración del Calibrador

Los resultados serán expresados en mg/dL.

LIMITACIÓN DEL PROCESO

No utilizar anticoagulantes que contengan citrato.

No exponer los reactivos a la luz.

INTERFERENTES

El Ácido Ascórbico hasta 100 mg/dL, Bilirubina hasta 60 mg/dL, Hemoglobina hasta 1000 mg/dL, Gammaglobulina hasta 5000 mg/dL y el Triglicéridos hasta 1800 mg/dL no alteran los resultados.

Las muestras con N-acetilcisteína de deben ser utilizadas.

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

VALORES DE REFERENCIA 7

Los valores de referencia en mg/dL, para el presente método, fueron obtenidos a través de la determinación de Colesterol HDL en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino. Los valores de referencia a continuación son para los sujetos con ayuno de 12 horas y siguen el Adult Treatment Panel III (ATP III).

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

Para conversión de los datos en el Sistema Internacional (SI), multiplicar el resultado: mg/dL x 0,02586 = mmol/L. 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

EXACTITUD
Recuperación

El análisis de recuperación fue hecho con 05 determinaciones de muestras. Las exactitudes fueron calculadas y se encontraron en buena concordancia con los valores de referencia, obteniéndose una recuperación entre 95% y 103%.

Comparación de Metodos

El kit HDL Directo fue comparado con otro método para dosificación de Colesterol HDL comercialmente disponible. Fueron realizados 42 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue Y = 0,989X + 0,3611 y el coeficiente de correlación 0,9987. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Repetibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/dL)	16,98	26,18	21,05
Desvío Patrón (mg/dL)	0,16	0,38	0,22
Coefficiente de Variación (%)	0,93	1,47	1,05

Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Reproductibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/dL)	16,70	26,16	21,01
Desvío Patrón (mg/dL)	0,52	0,03	0,49
Coefficiente de Variación (%)	3,12	0,11	2,33

SENSIBILIDAD

La sensibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones de una muestra exenta de Colesterol HDL. El promedio encontrado fue 0,66 mg/dL con desvío patrón de 0,08 mg/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, que corresponde al promedio más 3 veces el desvío patrón, es igual a 0,91 mg/dL.

LINEARIDAD

La reacción es linear de 3 hasta 200 mg/dL. Para valores mayores que 200 mg/dL, repetir la determinación diluyendo la muestra con NaCl 0,85%. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas constituídas por Colesterol, Triglicéridos, Fosfolípidios y Proteínas. Estas partículas son responsables por el transporte de colesterol entre las células periféricas y el hígado. La proporción relativa entre proteínas y lípidios determina la densidad de las lipoproteínas – kilomicrons, VLDL. LDL y HDL. La monitoración del Colesterol HDL en suero es de grande importancia debido a la correlacion inversa entre sus concentraciones plasmática y el riesgo de enfermedades coronarias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - WILLIAM, P., ROBINSON, D., BAILY, A.. High Density Lipoprotein and Coronary Risk Factor. Lancet, 1:72 (1979).
- 2 - BADIMON, J.J., BADIMON, L., FUESTER, V.. Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma. Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. Journal of Clinical Investigation, 1990;85:1234-41.
- 3 - BARR, D.P., RUSS, E.M., EDER, H.A.. Protein-Lipid Relationships in Human Plasma. Am. J. Med., 11:480, 1951.
- 4 - GOTTO, A.M.. Lipoprotein Metabolism and Etiology of Hyperlipidemia. Hospital Practice, 23: Suppl. 1,4 1988.
- 5 - Reunião Conjunta – Laudos Laboratoriais. SBC/DA, SBAC, SBPC/ML, SBBM; 15 de Outubro de 2013.
- 6 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 7- 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.
- 8 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados 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 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 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

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

Número de registro del kit HDL Directo en la ANVISA: 10269360122

Revisión: Julio/2022

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NUMERO DE CATALOGO



FABRICADO POR



NUMERO DE LOTE



CONTROLAR



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



FECHA DE VALIDEZ
(último día del mes)



CONTROL NEGATIVO



LÍMITE DE TEMPERATURA
(tienda)



RIESGO BIOLÓGICO



EL CONTENIDO ES SUFICIENTE
PARA <N> PRUEBA



INFLAMABLE



VER INSTRUCCIONES
DE USO



CORROSIVO



PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO
IN VITRO



TÓXICO



PROTEGER DE
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTÁ
DAÑADA



NO REUTILIZA



PRODUCTO
ESTERILIZADO



PRECAUCIÓN



PELIGRO

HDL DIRECT

[REF] K071

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Method for determination of HDL Cholesterol in biological samples of serum or plasma (Heparin or EDTA). Colorimetric Enzymatic test, for *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzymatic - Colorimetric

The HDL Direct kit allows a direct determination without need for prior precipitation or sample treatment. Reagents are used to carry out selective dosage of cholesterol bound to HDL. The surfaces of low density lipoproteins (LDL), very low density (VLDL) and chylomicrons are stabilized by adsorption of polyanion and do not undergo the action of modified enzymes present in reagent. HDL, however, solubilize under the action of a detergent, allowing the enzymatic action on cholesterol attached to it. Thus, the intensity of color formed is proportional to the concentration of HDL cholesterol in the sample.

REAGENTS

Number 1 - Polyanion - Store between 2 and 8°C. Contains: Polyanion 0.2% and 4-Aminophenazone 2.0 mmol/L.

Number 2 - Enzymatic Reagent - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer 100 mmol/L (pH 7.0), DSBT 24 mmol/L, Cholesterol Esterase < 300 U/L, Cholesterol Oxidase < 300 U/L, Peroxidase < 1000 U/L and detergent.

Number 3 - Calibrator - Store between 2 and 8°C. Contains: Lyophilized Serum with HDL value set. **Potentially infectious.**

Warning: The concentration varies with the lot - see bottle label.

PRESENTATION

Presentation	Reagent N° 1	Reagent N° 2	Reagent N° 3
1	60 mL	20 mL	2 mL
2	240 mL	80 mL	2 mL
3	30 mL	10 mL	2 mL
4	2 x 30 mL	2 x 10 mL	2 mL
5	4 x 30 mL	4 x 10 mL	2 mL
6	6 x 30 mL	6 x 10 mL	2 mL
7	2 x 60 mL	2 x 20 mL	2 mL
8	3 x 60 mL	3 x 20 mL	2 mL
9	4 x 60 mL	4 x 20 mL	2 mL
23	60 mL	20 mL	5 mL
24	240 mL	80 mL	5 mL
25	30 mL	10 mL	5 mL
26	2 x 30 mL	2 x 10 mL	5 mL
27	4 x 30 mL	4 x 10 mL	5 mL
28	6 x 30 mL	6 x 10 mL	5 mL
29	2 x 60 mL	2 x 20 mL	5 mL
30	3 x 60 mL	3 x 20 mL	5 mL
31	4 x 60 mL	4 x 20 mL	5 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Thermostated spectrophotometer, watch or stopwatches, pipettes, test tubes, water bath at 37°C, Biocontrol N Bioclin and Biocontrol P Bioclin. These itens are 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 up to 30°C should not exceed 5 days. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For *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- 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.

6- 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.

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

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

SAMPLES

Serum obtained free from hemolysis, plasma collected with Heparin or EDTA. After collection, the sample should be centrifuged in up to 3 hours.

HDL cholesterol is stable in serum for up to 7 days at 2 to 8°C ⁶ and for 30 days at -20°C.

Samples stored at temperatures between 15 and 30°C have stabilities of at most 14 hours.

PROCESS DESCRIPTION

The calibration stability of the HDL Direct kit installed on refrigerated equipment is at least 21 days. This stability may vary depending on the conditions of the test, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control serum.

REAGENTS PREPARATION

Before reconstitute the Calibrator should be noted the volume indicated on the bottle and proceed as described below.

Presentation 1 to 9: Open carefully the bottle and add exactly **2 mL of distilled water**, as volume described in the label of the bottle.

Presentation 23 to 31: Open carefully the bottle and add exactly **5 mL of distilled water**, as volume described in the label of the bottle.

Mix. Leave the bottle resting for 30 minutes.

Every 10 minutes, agitate the bottle carefully using circular motion to prevent material sticking to the wall of the bottle. Avoid formation of foam.

After reconstitution, the calibrator is stable for 7 days at 2 to 8°C or 30 days at -20°C.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits.

Mark 3 test tubes: B (Blank), C (Calibrator), S (Sample) and proceed as follows:

	Blank	Calibrator	Sample
Reagent N° 1	300 µL	300 µL	300 µL
Calibrator	---	3 µL	---
Sample	---	---	3 µL

Homogenize and place it in a water bath at 37°C for 5 minutes. Read the absorbance from Sample (S1) and Calibrator (C1) in 550 nm (540 - 560 nm), adjusting the zero with the Blank.

Reagent N° 2	100 µL	100 µL	100 µL
--------------	--------	--------	--------

Homogenize and place it in a water bath at 37°C for 5 minutes. Read the absorbance from Sample (S2) and Calibrator (C2) in 550 nm (540 - 560 nm), adjusting the zero with the Blank. Color is stable for 60 minutes.

CALCULATIONS

HDL Cholesterol = $\frac{(A2 - A1)}{(C2 - C1)}$ x Calibrator Concentration

Results are expressed in mg/dL.

PROCEDURE LIMITATIONS

Do not use anticoagulants containing citrate.

Do not expose the reactive to light.

INTERFERENCES

The Ascorbic Acid up to 1000 mg/dL, Bilirubin up to 60 mg/dL, Hemoglobin up to 1000 mg/dL, Gammaglobulin up to 5000 mg/dL and Triglycerides up to 1800 mg/dL did not alter the results.

N-acetylcysteine samples should not be use.

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 a 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 calibrator 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.
Reference values below are for individuals with 12 hours fasting and follow Adult Treatment Panel III (ATP III).

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

To convert the data in International System (IS), multiply the results: mg/dL x 0.02586 = mmol/L
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
ACCURACY

Recovery
The recovery analysis was performed with 05 determinations samples. Accuracies were calculated and found themselves in good agreement with the reference values, obtaining a recovery between 95% and 103%.

Comparison of Methods

The HDL Direct kit was compared with other method for HDL Cholesterol dosage commercially available. 42 analyses were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was Y = 0.989X + 0.3611 and the correlation coefficient 0.9987. With these results we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

PRECISION

Repeatability
The repeatability was calculated from 40 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Repeatability	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average concentration (mg/dL)	16.98	26.18	21.05
Standard Deviation (mg/dL)	0.16	0.38	0.22
Coefficient of Variation (%)	0.93	1.47	1.05

Reproducibility

The reproducibility was calculated from 40 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Reproducibility	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average concentration (mg/dL)	16.70	26.16	21.01
Standard Deviation (mg/dL)	0.52	0.03	0.49
Coefficient of Variation (%)	3.12	0.11	2.33

SENSITIVITY

The sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free of HDL Cholesterol. The average found was 0.66 mg/dL with a standard deviation of 0.08 mg/dL. The sensitivity, which indicates the method detection limit, correspond the average plus 3 times the standard deviation, and is equal to 0.91 mg/dL.

LINEARITY

Reaction is linear from 3 to 200 mg/dL. For values higher than 200 mg/dL, repeat the determination diluting the sample with NaCl 0.85%. Multiply the results obtained by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The plasmatic lipoproteins are spherical particles consisting of Cholesterol, Triglycerides, and Phospholipids and Proteins. These particles are responsible for transportation of the cholesterol from peripheral cells and liver. The relative proportion between proteins and lipids determine the density of lipoproteins - chylomicrons, VLDL, LDL and HDL. Monitoring HDL Cholesterol in serum is of great importance due to inverse correlation between plasmatic concentrations and the risk coronary disease.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1 - WILLIAM, P., ROBINSON, D., BAILY, A.. High Density Lipoprotein and Coronary Risk Factor. Lancet, 1:72 (1979).
- 2 - BADIMON, J.J., BADIMON, L., FUESTER, V.. Regression of Atherosclerotic Lesions by High-Density Lipoprotein Plasma. Fraction in the Cholesterol-Fed Rabbit. Journalof Clinical Investigation, 1990; 85: 1234-41.
- 3 - BARR, D.P., RUSS, E.M., EDER, H.A.. Protein-Lipid Relationships in Human Plasma. Am. J. Med., 11:480, 1951.
- 4 - GOTTO, A.M.. Lipoprotein Metabolism and Etiology of Hyperlipidemia. Hospital Practice, 23: Suppl. 1,4 1988.
- 5 - Reunião Conjunta – Laudos Laboratoriais. SBC/DA, SBAC, SBPC/ML, SBBM; 15 de Outubro de 2013.
- 6 - WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 7- 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.
- 8 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

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 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for HDL Direct kit: 10269360122

Review: July/2022

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <n> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER