

Determinación cuantitativa de triglicéridos IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerol quinasa (GK) en presencia de ATP para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂) por glicerol fosfato oxidasa (GPO).

Al final, el peróxido de hidrogeno (H₂O₂) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula.

Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre.

Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos.

Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias, como ciertas disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas con su elevación^{3,6,7}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R (Nota 2)	GOOD pH 6.3	50 mmol/L
	p-Clorofenol	2 mmol/L
	Lipoproteína lipasa (LPL)	150000U/L
	Glicerol quinasa (GK)	500 U/L
	Glicerol-3-oxidasa (GPO)	3500 U/L
	Peroxidasa (POD)	440 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,1 mmol/L
ATP	0,1 mmol/L	
TRIGLYCERIDES CAL Patrón primario acuoso		200 mg/dL

PREPARACIÓN

El reactivo y el patrón están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Deterioro de los reactivos

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del blanco a 505 nm $\geq 0,26$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero y plasma¹.

Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
 Longitud de onda: 505 (490-550) nm
 Cubeta: 1 cm paso de luz
 Temperatura: 37°C / 15-25°C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta (Nota 4).

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota 1,3) (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 min. a 15-25°C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

(A) Muestra - (A) Blanco x Conc. Patrón = mg/dL de triglicéridos en la muestra
 (A) Patrón - (A) Blanco

Factor de conversión: mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, el reactivo y el material de calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

Hombres: 40 – 160 mg/dL

Mujeres: 35 – 135 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,000 mg/dL hasta el *límite de linealidad* 1200 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con C1Na 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	Media (mg/dL)	SD	Media (mg/dL)	SD
Media (mg/dL)	109	224	111	224
SD	0,64	1,01	3,74	7,91
CV (%)	0,58	0,45	3,38	3,52

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0013 (A).

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,99810.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,9178x – 0,5426

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirrubina < 170 μmol/L, hemoglobina < 10 g/L².

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de los triglicéridos^{4,5}.

NOTAS

1. TRIGLYCERIDES CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
2. LCF (*Lipid Clearing Factor*) está integrado en el reactivo.
3. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
4. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
5. **SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

1. Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
2. Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
3. Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 41030	R:1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41031	R:2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41032	R:1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41033	R:1 x 500 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41034	R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL

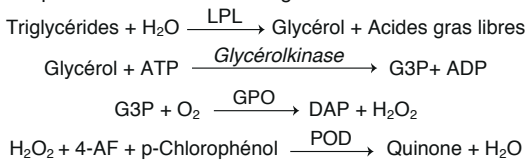
Détermination quantitative de triglycérides IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéinlipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérol kinase (GK) en présence de l'ATP pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par le glycérol phosphate oxydase (GPO).

Au final, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge:



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé^{1,2,3}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les triglycérides sont des graisses qui apportent de l'énergie à la cellule. À l'instar du cholestérol, ils sont transportés vers les cellules de l'organisme par les lipoprotéines du sang.

Un régime riche en graisses saturées ou hydrates de carbone peut élever les niveaux de triglycérides.

Son augmentation n'a pas de spécificité. Plusieurs douleurs, comme certains troubles hépatiques (cirrhose, hépatite, obstruction biliaire) ou diabètes, peuvent être associés avec son élévation^{3,6,7}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

RÉACTIFS

R <small>(Remarque 2)</small>	GOOD pH 6,3	50 mmol/L
	p-Chlorophénol	2 mmol/L
	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/L
	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	3500 U/L
	Peroxydase (POD)	440 U/L
	4 - Aminophénazone (4-AF)	0,1 mmol/L
ATP	0,1 mmol/L	
TRIGLYCERIDES CAL		Étalon primaire de détection 200 mg/dL

PRÉPARATION

Le réactif et l'étalon sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Détérioration des réactifs

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbances (A) du blanc à 505 nm ≥ 0,26.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 505 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire

ÉCHANTILLONS

Sérum et plasma¹.

Stabilité de l'échantillon : 5 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 505 nm (490-550)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C / 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- Pipeter dans une cuvette^(Remarque 4):

	Blanc	Étalon	Échantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon ^(Remarque 1,3) (μL)	--	10	--
Échantillon (μL)	--	--	10

- Mélanger et incubé pendant 5 minutes à 37°C ou 10 min. à 15-25°C
- Lire l'absorbation (A) du étalon et l'échantillon contre le Blanc du réactif. La couleur est stable au moins 30 minutes

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Échantillon} - (A) \text{Blanc}}{(A) \text{Étalon} - (A) \text{Blanc}} \times \text{Conc. Étalon} = \text{mg/dL de triglycérides dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion : mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, le réactif et le matériel d'étalonnage.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

Hommes : 40 – 160 mg/dL

Femmes : 35 – 135 mg/dL

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Plage de mesure: Depuis la *limite de détection* de 0,000 mg/dL, jusqu'à la *limite de linéarité* de 1200 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	Moyenne (mg/dL)	SD	CV (%)	
Moyenne (mg/dL)	109	224	111	224
SD	0,64	1,01	3,74	7,91
CV (%)	0,58	0,45	3,38	3,52

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,0013 (A).

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,99810

Equation de la Courbe de régression: y= 0,9178x - 0.5426

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé

INTERFERENCES

Il n'a pas été observé d'interférences avec la bilirubine < 170 μmol/L, hémoglobine < 10 g/L².

Il a été rapporté que certaines drogues et autres substances interfèrent avec la détermination des triglycérides^{4,5}.

REMARQUES

- TRIGLYCERIDES CAL : En raison de la nature du produit, il est conseillé de le traiter avec beaucoup de soin vu qu'il peut facilement contaminer.
- LCF (*Lipid Clearing Factor*) est intégré au réactif.
- La calibration avec l'Étalon aqueux peut donner lieu à des erreurs systématiques dans les méthodes automatiques. Dans ce cas, il est recommandé d'utiliser des calibrateurs sériques.
- Utiliser des embouts de pipette jetables et propres pour la dispensation.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

BIBLIOGRAPHIE

- Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
- Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
- Kaplan A et al. Tryglicerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRÉSENTATION

Ref: 41030	R:1 x 50 mL,	CAL: 1 x 2 mL
Ref. 41031	R:2 x 150 mL,	CAL: 1 x 5 mL
Ref. 41032	R:1 x 100 mL,	CAL: 1 x 2 mL
Ref. 41033	R:1 x 500 mL,	CAL: 1 x 5 mL
Ref. 41034	R:1 x 1000 mL,	CAL: 1 x 5 mL

Cont.

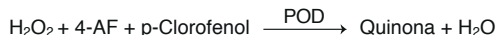
Determinação quantitativa de triglicéridos
IVD

Conservar entre 2-8 °C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os triglicéridos incubados com lipoproteínolipase (LPL) libertam glicerol e ácidos gordos livres. O glicerol é fosforilado pela glicerol quinase (GK) na presença de ATP para produzir glicerol-3-fosfato (G3P) e adenosina-5-difosfato (ADP). O G3P é então convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) e peróxido de hidrogénio (H₂O₂) pela glicerol fosfato oxidase (GPO).

No final, o peróxido de hidrogénio (H₂O₂) reage com 4-aminofenazona (4-AF) e p-clorofenol, reacção catalizada pela peroxidase (POD) dando uma coloração vermelha:



A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de triglicéridos presente na amostra testada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Os triglicéridos são gorduras que *fornece*m energia à célula.

Tal como o colesterol, são transportados para as células do organismo através das lipoproteínas existentes no sangue.

Uma dieta rica em gorduras saturadas ou hidratos de carbono pode aumentar os níveis de triglicéridos.

O seu aumento é relativamente inespecífico. Diversas doenças, tais como determinadas disfunções hepáticas (cirrose, hepatite, obstrução biliar) ou diabetes mellitus, podem estar associadas ao seu aumento^{3,6,7}.

O diagnóstico clínico deve realizar-se tendo em consideração todos os dados clínicos e laboratoriais.

REAGENTES

R (Nota 2)	GOOD pH 6,3	50 mmol/L
	p-Clorofenol	2 mmol/L
	Lipoproteína lipase (LPL)	150000U/L
	Glicerol quinase (GK)	500 U/L
	Glicerol-3-oxidase (GPO)	3500 U/L
	Peroxidase (POD)	440 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,1 mmol/L
ATP	0,1 mmol/L	
TRIGLYCERIDES CAL		Padrão primario aquoso 200 mg/dL

PREPARAÇÃO

O reagente e o padrão estão prontos a ser utilizados.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até ao prazo de validade indicado na etiqueta do vial, quando os vials são mantidos bem fechados, a uma temperatura entre 2-8 °C, protegidos da luz e se evita a sua contaminação.

Não utilizar reagentes que tenham ultrapassado o prazo indicado.

Degradação dos reagentes

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvância (A) do branco a 505 nm ≥ 0,26.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 505 nm.
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.
- Equipamento de rotina de laboratório.

AMOSTRAS

Soro e plasma¹.

Estabilidade da amostra: 5 dias a 2-8 °C.

PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:
Comprimento de onda: 505 (490-550) nm
Cuvete: 1 cm de passo de luz
Temperatura: 37 °C / 15-25 °C
- Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada.
- Pipetear para uma cuvette^(Nota 4).

	Branco	Padrão	Amostra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Padrão ^(Nota1,3) (µL)	--	10	--
Amostra (µL)	--	--	10

- Misturar e incubar 5 minutos a 37 °C ou 10 min entre 15-25 °C.
- Ler a absorvância (A) do padrão e da amostra, frente ao Branco do reagente. A cor é estável durante 30 minutos, no mínimo.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco}}{(A) \text{ Padrão} - (A) \text{ Branco}} \times \text{Conc. Padrão} = \text{mg/dL de triglicéridos na amostra}$$

Factor de conversão: mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras de soro de controlo avaliados: SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210)

Se os valores determinados se encontrarem fora do intervalo de tolerância, devem rever-se o instrumento, o reagente e o material de calibração.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer procedimentos de correcção no caso de os controlos não cumprirem as tolerâncias.

VALORES DE REFERÊNCIA

Homens: 40 – 160 mg/dL

Mulheres: 35 – 135 mg/dL

Estes valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medição: Desde o *limite de detecção* 0,000 mg/dL até ao *limite de linearidade* 1200 mg/dL.

Se a concentração da amostra for superior ao limite de linearidade, diluir 1/2 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 2.

Precisão:

Média (mg/dL)	Intrasérie (n=20)		Intersérie (n=20)	
	109	224	111	224
SD	0,64	1,01	3,74	7,91
CV (%)	0,58	0,45	3,38	3,52

Sensibilidade analítica: 1 mg/dL = 0,0013 (A).

Exactidão: Os reagentes SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r)²: 0,99810.

Equação da recta de regressão: y = 0,9178x - 0,5426

As características do método podem variar em função do analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Não se observaram interferências com bilirrubina < 170 µmol/L, hemoglobina < 10 g/L².

Foram descritos várias fármacos e outras substâncias que interferem na determinação dos triglicéridos^{4,5}.

NOTAS

- TRIGLYCERIDES CAL: Devido à natureza do produto, é aconselhável tratá-lo com extremo cuidado uma vez que se pode contaminar com facilidade.
- LCF (*Lipid Clearing Factor*) está integrado no reagente.
- A calibração com o Padrão aquoso pode originar erros sistemáticos em métodos automáticos. Neste caso, recomenda-se a utilização de calibradores séricos.
- Utilizar pontas de pipeta descartáveis limpas para a sua dispensação.
- A SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores.**

BIBLIOGRAFIA

- Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
- Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
- Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

APRESENTAÇÃO

Ref: 41030	R:1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41031	R:2 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41032	R:1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 41033	R:1 x 500 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 41034	R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL