

Método

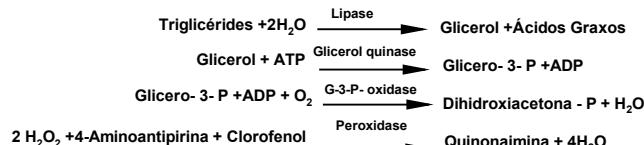
Glicerol fosfato oxidase/Peroxidase - Enzimático Colorimétrico.

Finalidade

Kit para determinação do triglicérides em amostras de soro ou plasma.

Princípio do método

A determinação dos triglicérides por métodos enzimáticos combina a elevada especificidade da ação enzimática com a simplicidade operacional envolvida. Os triglicérides presentes na amostra são hidrolisados através da ação da lipase e determinados através de um composto final corado com máximo de absorção em 500 nm, segundo as reações acopladas descritas abaixo. A cor formada é proporcional à concentração de triglicérides presentes na amostra.

**Significado clínico**

Os triglicérides (triacilglicerol) são cadeias longas de ésteres de ácidos graxos do glicerol e, usualmente, três diferentes ácidos graxos estão presente. Eles constituem aproximadamente 95 por cento do tecido adiposo em peso e são a principal forma de armazenamento de lipídios no homem. Sintetizados principalmente no fígado, os triglicérides são transportados no plasma pelas lipoproteínas e são utilizados pelo tecido adiposo, muscular e outros. Sua principal função é fornecer energia as células. As concentrações elevadas de triglicérides no soro podem ser devida a alterações hepatobiliares, diabetes mellitus, hipotireoidismo, alcoolismo e hiperlipoproteinemia familiar IV e V entre outras.

Composição dos reagentes**Reagente Enzimático**

Pipes	45mmol/L
Cloreto de magnésio	5mmol/L
4-clorofenol	6mmol/L
Lipase.....	>100U/mL
Glicerol quinase	>1,5U/mL
Glicerol-3-fosfato oxidase	>4 U/mL
Peroxidase	>0,80U/mL
4-aminoantipirina	>0,75mmol/L
ATP	>0,90mmol/L

Padrão

Glicerol	200 mg/dL
----------------	-----------

Apresentação

Código	Reagente Enzimático	Padrão
0030	1x100mL	1x1,5mL
0019	2x100mL	1x3,0mL
0025	2x200mL	1x3,0mL

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração na faixa entre 2 a 8°C e ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Não utilizar os reativos nas condições abaixo:

Reagente Enzimático: Presença de partículas, turbidez ou absorbância do branco, contra água destilada, maior que 0,150 D.O a 500 nm (cubeta de 1cm).

Padrão: Presença de partículas ou turbidez.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada;
- Banho-maria;
- Cronômetro;
- Espectrofotômetro;
- Pipetas manuais ou automáticas;
- Ponteiras descartáveis;
- Vidriaria.

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro";
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes;
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação;
- Caso haja contato com quaisquer reagentes, lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes, procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso;
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança;
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise;
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança;
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infecioso.

Amostra biológica

Soro ou plasma.

Os triglicérides em soro ou plasma são estáveis durante 5 dias quando mantidos entre 2 a 8°C. Anticoagulantes como heparina, EDTA, fluoreto e oxalato **não interferem**.

O jejum de 12 horas é absolutamente necessário para a determinação dos triglicérides.

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de esgoto.

Preparo dos reagentes

Os reagentes encontram-se prontos para uso. .

Procedimento

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
2. Pipetar, em diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Amostra	-	10µL	-
Padrão	-	-	10µL
Reagente Enzimático	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37° C durante 5 minutos, ou 15 minutos à temperatura ambiente;
4. Determinar as absorbâncias do padrão e da amostra em 500 nm, acertando o zero com o branco. A cor formada é estável por 2 horas.

Cálculos

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{200}{(\text{Abs. do Padrão})}$$

$$\text{Triglicérides (mg/dL)} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo:

$$\text{Concentração do padrão: } 200 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Absorbância do padrão: } 0,280 \text{ D.O}$$

$$\text{Absorbância da amostra: } 0,120 \text{ D.O}$$

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{200}{(0,280)} = 714 \quad \text{Amostra (mg/dL)} = 714 \times 0,120 = 85,7$$

$$\text{Unidades SI: Triglicérides (mmol/L)} = \text{triglicérides (mg/dL)} \times 0,0113$$

Linearidade

A reação é linear até 600 mg/dL (6,78 mmol/L). Para valores acima de 600 mg/dL, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição empregado.

Valores de referência

Soro ou plasma

Adultos

Desejável	< 150 mg/dL
Limite Alto	150-199 mg/dL
Elevado	200-499 mg/dL
Muito Elevado	> 500 mg/dL

Fonte: US National Institutes of Health

Pediátricos

Idade (anos)	Sexo masculino (mg/dL)	Sexo feminino (mg/dL)
0-9	30-100	35-110
10-14	23-125	37-131
15-19	37-148	39-127

Fonte: Burts C, (1999).

*Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência.

Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferencialmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação: 99,4%

Repetitividade

Concentração média	n	CV
100 mg/dL	20	1,7
245 mg/dL	20	0,7

Reprodutibilidade

Concentração média	n	CV
100 mg/dL	25	2,6
245 mg/dL	25	1,7

Especificidade analítica: A determinação dos triglicérides empregando-se enzimas em todas as etapas da dosagem constitui o método mais específico e exato disponível atualmente.

Sensibilidade analítica: O método é sensível a partir de valores de 20 mg/dL de triglicérides na amostra.

Interferentes

Ácido ascórbico (0,3 mmol/L), hemoglobina (3g/L), bilirrubina (0,25 mmol/L) interferem.

Referências bibliográficas

1. Buco G and David H. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19: 476-482.
2. Fossati P and Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzymehat produces hydrogen peroxide. Clin Chem 1982; 28: 2077-2080.
3. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda: National Heart, Lung, and Blood Institute; 2001.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press,1997.
6. Lima A et al., 1992. Métodos de Laboratório aplicado a clínica. 7° Ed. Editora Guanabara.
7. Miller, O e Gonçalves, R., 1995. Laboratório para o Clínico. 8° Ed. Editora ATHENEU

Número de testes

Código	Técnica Macro (1 mL)	Técnica Micro (0,5 mL)
0030	100	200
0019	200	400
0025	400	800

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda.
Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32.372-120
Responsável Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

✉(31) 3394–9005 (Ramal: 211)
✉ sac@mbiolog.com.br - www.mbiolog.com.br

Versão 02 / Revisão 00

Parâmetros para programação

COBAS MIRA / COBAS MIRA PLUS	
GENERAL	
MEASUREMENT MODE	ABSORB
REACTION MODE	R-S (1)
CALIBRATION MODE	**CALIBRATOR (2)
REAGENT BLANK	REAG/DIL (2)
CLEANER	NO (1)
WAVELENGTH	500 nm (3)
DECIMAL POSITION	0
UNIT	mg/dL (12)
ANALYSIS	
POST. DIL FACTOR	3
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	2
VOLUME	3 µL
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	25 µL
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	210 µL
CALCULATION	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	INCREASE (1)
CHECK	ON (1)
CONVERSION FACTOR /OFFSET	1/0
TEST RANGE LOW	0
HIGH	600
NORMAL RANGE LOW	60
HIGH	150
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	ENDPOINT (1)
READING FIRST	1
LAST	13
CALIBRATION	
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAGENTE RANGE LOW	NO - SPACE
HIGH	NO - SPACE
BLANK RANGE LOW	NO - SPACE
HIGH	NO - SPACE
STANDARD POS	*
STD - 1	*

* Parâmetros inserido pelo usuário.

** Cobas Mira Plus = Slope AVG

EXPRESS 550/550 PLUS

TEST NAME: TRIGLICÉRIDES	TEST: TRI			
TEST BAR CODE: *				
TEST TYPE: END POINT	CURVE TYPE: BLAN. LINEAR			
UNITS: mg/dL	Nº OF DECIMAL PLACE: 1			
PRIMARY WAVELENGHT: 510	SECONDARY WAVELENGHT: 600			
READ TIME / INTERVAL: 20	SAMPLE BLANK: NO			
FACTOR:				
CALIBRATION INTERVAL: *	Nº OF REPLICATES: *			
Nº OF CALIBRATOR: 2				
LOW BLANK A LIMIT: -0.100	HIGH BLANK A LIMIT: 0.350			
LOW A LIMIT: 0,000	HIGH A LIMIT: 2.000			
LOW NORMAL: 60	HIGH NORMAL: 150			
LINEARITY LIMIT: 600	CURVE S.D. LIMIT: 10			
SAMPLE VOLUME: 3	TEST: TRI			
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *	PREDILUTION RATIO: 1			
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE: *				
Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	LAG TIME	BT
REAGENT 1	300	TG1A	-	240 *

* Parâmetros inserido pelo usuário.

BIOPPLUS 2000 / 200

MODO	P.F	P1	*
WLI	505	UNDIDAD	mg/dL
WL2	-	DECIMALS	1
BLANK?	SIM	LIM LIN MIN	0
BLANK- AMOS – PAD?	NÃO/NÃO	LIM LIN MAX	
CUB FLUXO ?	SIM	ABS REAT MIN	-0,010
TEMP?	37 °C	ABS REAT MAX	0,400
VOL ASP	800	ABS PAD MIN	0,010
RETARDO	3	ABS PAD MAX	1,200
PADRÃO	SIM	VR/VN MIN	*
PAD (QUANT)	ÚNICA	VR/VN MAX	*

* Parâmetros inserido pelo usuário.

Verificar os parâmetros das programações utilizando soros controles comerciais.