

REACTIVO DE TRIGLICERIDOS GPO:
USO:

Para determinación cuantitativa de triglicéridos en suero.

HISTORIA DEL METODO:

Los Triglicéridos se determinan comunmente por metodos que liberan glicerol ya sea por hidrólisis Enzimática o por un alcali con la combinación enzimática de Lipasa. Bucolo y David hidrolizaron los triglicéridos usando la combinación de enzima proteolitica y lipasa, El presente procedimiento usa este principio y mide la liberación de glicerol completando la reaccion enzimática.

El método presente utiliza una modificación del método trinder para producir una reacción lineal rápida de punto final.

PRINCIPIO:

- 1.- *Triglicéridos* $\xrightarrow{\text{Lipasa}}$ *Glicerol + Acidos Grasos*
- 2.- *Glicerol + ATP* $\xrightarrow{\text{GK}}$ *G₃P + ADP*
- 3.- *G₃P + O₂* $\xrightarrow{\text{GPO}}$ *DAP + H₂O₂*
- 4.- *H₂O₂ + TBHB* $\xrightarrow{\text{Peroxidasa}}$ *Quinonamina + 2H₂O*

El triglicérido en la muestra se hidroliza por la lipasa a glicerol y ácidos grasos. Después el glicerol es fosforilado por la adenosin 5 Trifosfato (ATP) a glicerol 3 fosfato (G₃P) y adenosin 5 difosfato en la reacción catalizada por la glicerolquinasa (GK) . El glicerol 3 fosfato es convertido a dihidroxiacetona fosfato (GPO) . El peróxido de hidrógeno reacciona con 4 aminoantipirina (4AAP) y con el ácido 3 hidroxí 2, 4, 6 triobenzóico (TBHB) en una reacción catalizada por la peroxidasa resultando un tinte color rojo quinonamina.

La intensidad del color producido es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra medida a 540 nm.

REACTIVOS:

La concentración se refiere al reactivo reconstituido.

- 1.- Reactivo Triglicérido: ATP 1.0 mM, sal de magnesio >5.0mM, TBHB 2.0 mM, GPO > 2,000 U/L, Lipasa>200,000 U/L, GK 6,000 U/L, Peroxidasa >500 U/L, Buffer, Surfactante, Estabilizadores y azida de sodio 0.1 %.

PRECAUCION:

- 1.- El reactivo contiene azida de sodio como preservativo. Esta puede reaccionar con el cobre o formar compuestos explosivos en las tuberías. Después de usarse lave con suficiente agua.
- 2.- Para diagnóstico "In Vitro" solamente.

PREPARACION DEL REACTIVO:

Reconstituya como esta indicado en la etiqueta con agua destilada y disuelva suavemente.

ALMACENAJE DEL REACTIVO Y ESTABILIDAD:

- 1.- El reactivo de triglicéridos debe estar almacenado de 2-8°C.
- 2.- El reactivo reconstituido es estable por 14 días cuando se refrigere de 2-8°C. y ocho horas a temperatura ambiente, el reactivo debe de almacenarse en frascos de vidrio ámbar.

DETERIORO DEL REACTIVO:
NO SE USE SI:

- 1.- El polvo aparenta humedad y tiene color obscuro.
 - 2.- El reactivo tiene una absorbancia inicial mayor de 0.500 contra agua a 520 nm.
- La coloración amarilla o rosa es normal.

COLECTA Y ALMACEN DE LA MUESTRA:

- 1.- Se recomienda suero fresco no hemolizado de paciente en ayuno.
- 2.- Se puede usar muestra con EDTA, o plasma heparinizado.
- 3.- No use plasma tratado con citrato, oxalato o fluoruro.
- 4.- No use muestras hemolizadas o ictericas .
- 5.- Los triglicéridos son estables en suero por varios días 2-8°C.
- 6.-No almacene las muestras a temperatura ambiente ya que los fosfolípidos se pueden hidrolizar dando valores falsos.

INTERFERENCIAS:

Las muestras lipémicas o ictericas pueden dar resultados falsos muy elevados. Corra un blanco de muestra ponga 0.01 ml. de muestra a 1.0 ml. de agua mezcle y corra contra agua a 500 nm. reste la absorbancia para corregir.

MATERIALES PROPORCIONADOS:

Reactivo de Triglicéridos.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS:

- 1.- Espectrofotómetro capaz de leer a 500 y 550 nm.
- 2.- Cuvetas.
- 3.- Micropipetas que midan 1.0 ml., 2.0 ml, 0.01 ml. 0.02 ml.
- 4.- Reloj.
- 5.- Block Térmico o Baño Maria 37°C.

6.- Agua destilada

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Consulte las aplicaciones del instrumento.

PROCEDIMIENTO MANUAL:

- 1.- Prepare el reactivo de acuerdo a las instrucciones del vial.
- 2.- Etiquete los tubos (Blanco, Estandar , Paciente, Control).
- 3.- Pipetee 1.0 ml. de reactivo en los tubos.
- 4.- Incube 37°C. por cinco minutos.
- 5.- Agregue 0.01 ml. 10ul de muestra y mezcle.
- 6.- Incube 5 minutos a 37°C.
- 7.- Ponga en ceros el espectro a 540 nm con un blanco de reactivo.
- 8.- Lea y anote las absorbancias de los tubos.

NOTAS:

- 1.- El color final es estable por 30 minutos.
- 2.- Las muestras con valores de 1000 mg/dl se diluyen 1:1 con agua y se multiplica el resultado por dos.

CONTROL DE CALIDAD:

Se recomienda el uso de sueros control para monitorear la validez de la reacción.

CALCULOS:

Abs. = *Absorbancia*

$$\frac{Abs. Paciente \times Conc. de}{Abs. STD} = Conc. de Paciente (mg / dl)$$

Ejemplo:

Abs. muestra = 0.300

Abs. std.=0.200

Conc. del std.=300 mg/dl.

$$\frac{0.300 \times 300 \text{ mg} / \text{dl}}{0.200} = 450 \text{ mg} / \text{dl}$$

NOTA:

Para obtener resultados en SI multiplique el resultado en mg/dl por 0.11 = mmol/l

LIMITANTES:

El glicerol libre se mide con este procedimiento. Generalmente son valores bajos pero las elevaciones pueden ser provocadas por la contaminación de la muestra.

VALORES ESPERADOS:

36 - 165 mg/dl.

DESEMPEÑO:

- 1.- Linealidad : 1000 mg/dl.

2.- Comparación : Un estudio contra otro método comercial nos dio un coeficiente de correlación de $y = 1.12 x - 10.2$.

3.- Precisión :

Entre pruebas		
Conc.	D.E.	C.V.%
98	.05	.05
290	2.5	.09

Prueba a prueba		
Conc.	D.E.	C.V.%
99	1.0	1.0
290	2.9	1.0

REFERENCIAS:

- 1.- Bucolo, G; David ,H,Clin Chem. 19:476 (1973)
 - 2.- Wybenga ,D,R, Inypen, J,A; Clinical Technics, Harper and Row.Hagerstow (MD), p. 1460 (1974)
 - 3.- Young, D,S; et al, Clin, Chem, 21:10 (1975).
 - 4.- Sisson, J,A, Handbook of Clinical Pathology, J,B. Lippicott Co. (1976)
 - 5.- tiffany, T,O; et al, Clin,Chem , 20: 476 (1974)
 - 6.- Baham D., Trinder, P. Analyst, 97:142 de 1972.
 - 7.- Fossati, P., Prencipe, L; Clin, Chem. 28:2077 d 1982
- REV. 2/90



DISTRIBUOTOR:
MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.
8684 Ave. de la Fuente Ste. 14
San Diego CA. 92154
Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297
www.mymSupply.com
email: mail@mymSupply.com