

TECO GRAM S.A.

Av. San Jorge 428 y 10ma. Guayaquil - Ecuador 042396966 - 042397979 - 042396610 tecogram@gye.satnet.net

Juego de Reactivos para Triglicéridos GPO

JUEGO DE REACTIVOS PARA TRIGLICERIDOS GPO

Para la determinación cuantitativa de Triglicéridos en suero o plasma.

INTRODUCCION

Los triglicéridos son esteres de los ácidos grasos y son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres. La determinación de los triglicéridos cuando se realiza junto con otros exámenes de lípidos es útil en el diagnostico de hiperlipoproteinemia primaria y secundaria. También son de interés para el seguimiento de la diabetes mellitus, nefrosis, obstrucción de las vías biliares y varias anormalidades por disturbios endocrinos.

Los métodos estándar para la medición de las concentraciones de triglicéridos a incluido tanto la hidrólisis alcalina para la liberación de glicerol como los enzimáticos. Nuestro exámen utiliza la hidrólisis enzimática y cuantificación puesto que es especifica y no está sujeta a interferencias por los fosfolipídicos.

PRINCIPIO

La reacción enzimática empleada en este exámen de triglicéridos es el siguiente:

| | | | Lipasa | |
|----------------|---------|----------------------------|----------------|----|
| Triglicéridos | | Glicerol más ácidos grasos | | |
| | | | Glicerol kinas | a |
| Glicero | + | ATP | | |
| glicerol-1-fos | fato+Al | DP | | |
| | | | Peroxidasa | |
| Glicerol-1-fos | sfato+C |)2 | Cromógeno | de |
| Quinoimeimii | na | | | |

+2H2O2.

Este procedimiento incluye la hidrólisis de los triglicéridos por la lipasa.

La concentración del glicerol se determina enzimáticamente junto con la reacción de Trinder que determina por su absorción a 520nm, y es directamente proporcional a la concentración de los triglicéridos de las muestras.

COMPOSICION DEL REACTIVO

Cuando se reconstituye tal y como se orienta, el triglicéridos contiene lo siguiente:

 Reactivo de triglicéridos (Concentración referida al reactivo reconstituido):ATP 3.3nM, Sales de magnesio 3.0nM, 4 – Amino antipirina 0.7nM, 3.5-Dicloro-2-Hidrobenceno sulfato 0.8nM. Oxido Glicerol-fosfato oxidasa 7000 U/L, ácida sódica

- 0.01%, glicerol kinasa 1000U/L, peroxidasa 10000 U/L, Buffer 50nM, pH 7.3.
- Estándar de triglicéridos: Contiene glicerol con un reductor de tensión superficial para mantener los 200mg/dl. De triglicéridos como trioleina. Contiene ácida sodica 0.1% como preservativo.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- 1. Para diagnostico "IN VITRO"
- 2. Evite la ingestión del reactivo pues su toxicidad aún no ha sido determinada.
- 3. Las muestras deberán ser consideradas infecciosas y se manipularán apropiadamente.
- 4. El reactivo y el estándar contienen azida sódica como preservativo. Esto puede reaccionar en el cobre o formar un compuesto explosivo con el plomo. Al desecharse vierta buena cantidad de agua para evitar la reconstitución de la azida sódica.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tanto el reactivo para triglicéridos como el estándar deben almacenarse entre 2 – 8 C después de reconstituirlos. El reactivo puede usarse hasta la fecha de expiración indicada en el envase. Después de reconstituido, el reactivo es estable por lo menos durante 30 días se esta conservando entre 2 – 8C. y siete días a temperatura ambiente. Debe protegerse el reactivo de la luz.

DETERIORO DE LOS REACTIVOS

El reactivo deberá desecharse si:

- El polvo seco aparece húmedo y tiene una coloración oscura.
- El reactivo no da linealidad establecida o no recobra los valores establecidos.

Nota.- una coloración amarilla o rosada es normal

3. El reactivo reconstituido tiene una absorbancia sobre 0.5 a 520nm.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

- Se recomienda el suero fresco, claro no hemolizado de pacientes en ayuna.
- 2. Los triglicéridos en suero son estables por 3 días conservados a una temperatura entre 2-8C.
- No es recomendable mantener las muestras a temperatura ambiente, pues otros compuestos que contienen glicerol se hidrolizan, liberando glicerol.
- No deben usarse tubos para recolección de muestras lubricados con glicerina.

INTERFERENCIAS

El glicerol de los tapones de goma o la cristalería contaminada elevarán los resultados de los triglicéridos. Las muestras lipémicas o muy itéricas darán resultados falsamente elevados y por tanto deberá usarse en estos casos un blanco muestra. También las muestras muy hemolizados producirán resultados falsamente elevados. Determinado números de drogas y sustancias afectan las mediciones de triglicéridos.

MATERIALES PROVISTOS

- 1. Reactivo para triglicéridos.
- 2. Estándar de triglicéridos de 200mg/dl.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

- 1. Espectrofotómetro capaz de media absorbancias en 520 nm.
- 2. Pipetas de Precisión con los volúmenes requeridos (1.0ml, 2.0ml, 0.01ml, 0.02ml).
- Incubador de temperatura constante entre 25 37 C.
- 4. Reloj.
- 5. Agua destilada.

INSTRUCIONES GENERALES

El reactivo para triglicéridos se usa tanto para procedimientos manuales como automatizados en un espectrofotómetro adecuado.

PROCEDIMIENTO MANUAL

- 1. Reconstituya el reactivo para triglicéridos de acuerdo a las instrucciones de la etiqueta.
- 2. Rotule tubos: blanco, estándar, paciente, control, etc.
- 3. Pipetee 1.0ml de reactivo a todos los tubos.
- 4. Coloque todos los tubos en incubación a 37 C. al menos por 4 minutos.
- 5. Agregue 0.01 ml (10ul) de muestra (tubo de muestra) y mezcle
- 6. Incube todos los tubos por 5 minutos a 37°
- 7. Ajuste el espectrofotómetro a cero con blanco de reactivo y en una longitud de onda de 520nm.

(Longitud de onda: 500 – 550 nm)

8. Lea y anote las absorbancias de todos los tubos.

NOTA: El color final permanece estable durante 60 minutos.

METODO ALTERNATIVO

Para espectrofotómetros que requieran más de 1.0 ml de reactivo agregue 0.02 ml (20ul) de muestra a 1.0 ml de reactivo. Incube durante 10 minutos a 37 C. y agregue 2.0ml de agua destilada a todos los tubos, inviértalos para que se mezclen y léalos inmediatamente a 520nm.

LIMITES DEL PROCEDIMIENTO

El reactivo es lineal hasta 1000 mg/dl deben diluirse con agua destilada, vueltos a procesar y los resultados multiplicarlos por 2.

CALCULOS

Abs. absorción

Abs.(paciente) x Conc. del estándar = Conc. del paciente

Abs.(estándar) (mg/dl)

(mg/dl)

Ejemplo: $0.24 \times 200 = 154.8 \text{ mg/dl}$

0.31

NOTA: Para obtener resultados en unidades del sistema internacional (mmol/L) multiplique el resultado en mg/dl por 10 para convertir dl. A litros y divida el resultado entre 885, o sea por el peso molecular de los triglicéridos como trioleína.

Ejemplo: $1.548 \text{ mg/dl. } \times 10 = 1.75 \text{ mmol/L}$

885

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda que se incluyan controles en cada tanda de exámenes. En el mercado se ofrecen materiales de control con valores de triglicéridos establecidos. El valor del material de control debe ser confirmado. Fallos al obtener un rango apropiado de valores del control puede significar deterioro del reactivo, mal funcionamiento instrumental o errores de procedimiento.

RANGO DE VALORES

Entre 36 y 165 mg/dl.

Se recomienda mucho que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

CARACTERISTICAS PROPIAS

- 1. Linealidad: 1000 mg/dl.
- Sensibilidad: basada en una resolución instrumental de A=0.001, éste procedimiento tiene una sensibilidad de 064 mg/dl.
- Comparación: se realizó un estudio comparativo entre nuestro procedimiento y otro con 22 sueros humanos. Se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.98 y una ecuación lineal de y= 1.0x + 2.03
- 4. Estudios de presición:

Precisión dentro de la corrida: se utilizaron dos controles comerciales y ensayados 15 veces se obtuvo la siguiente precisión (N=15)

| Valor (mg/dl) | <u>D.S.</u> | C.V. |
|---------------|-------------|------|
| 84 | 4 | 4% |
| 200 | 8 | 4% |

Precisión de día a día: se ensayaron dos sueros comerciales durante 30 días y se obtuvo la siguiente Precisión (N=30)

| Valor (mg/dl) | <u>D.S.</u> | C.V. |
|---------------|-------------|------|
| 82 | 3 | 3% |
| 100 | 7 | 3% |

 Especificidad: este procedimiento mide los triglicéridos totales que se encuentran en el suero y también el glicerol libre presente en la muestra. En el suero fresco la concentración del glicerol libre generalmente no excede los 1.0 mg/dl (9.6 mg/dl de triglicéridos).