

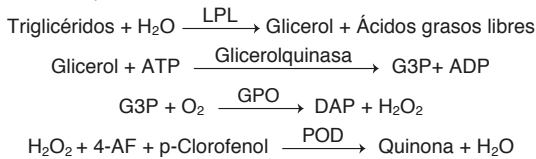
**Determinación cuantitativa de triglicéridos IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

Los triglicéridos incubados con lipoproteín lipasa (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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por glicerol fosfato oxidasa (GPO).

Al final, el peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 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<sup>1,2,3</sup>.

**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<sup>3,6,7</sup>.

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

**REACTIVOS**

<b>R 1</b>	GOOD pH 7,5	50 mmol/L
Tampón	p-Clorofenol	2 mmol/L
<b>R 2</b>	Lipoprotein lipasa (LPL)	150000 U/L
	Glicerol quinasa (GK)	500 U/L
	Glicerol-3-oxidasa (GPO)	2500 U/L
	Peroxidasa (POD)	440 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,1 mmol/L
ATP	0,1 mmol/L	
<b>TRIGLICERIDOS CAL</b>	Patrón primario acuoso de Triglicéridos	200 mg/dL

**PREPARACIÓN**

Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

RT Estabilidad: 6 semanas en nevera (2-8°C) o una semana a 15-25°C.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

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

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del blanco a 505 nm  $\geq 0,14$ .

**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 plasma heparinizado o EDTA<sup>1</sup>. Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

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

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(Nota 1,3)</sup> (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 min. a temperatura ambiente.
- 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  
(A) Patrón - (A) Blanco

$\times 200$  (Conc. Patrón) = mg/dL de triglicéridos en la muestra

**Factor de conversión:** mg/dL  $\times 0,0113$  = 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, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

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* de 1200 mg/dL.

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

**Precisión:**

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	103	219	103	217
SD	0,41	0,93	3,74	7,80
CV (%)	0,39	0,43	3,62	3,59

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,00137 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): 0,99760.

Ecuación de la recta de regresión:  $y = 0,905x + 10,77$ .

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

No se han observado interferencias con bilirrubina hasta 170 μmol/L y hemoglobina hasta 10 g/L<sup>2</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de los triglicéridos<sup>4,5</sup>.

**NOTAS**

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

**BIBLIOGRAFÍA**

- 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.

**PRESENTACIÓN**

Ref: 1001310	R1: 1 x 50 mL, R2: 5 → 10 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001311	R1: 10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001312	R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001313	R1: 4 x 125 mL, R2: 4 → 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001314	R1: 4 x 250 mL, R2: 4 → 250 mL, CAL: 1 x 5 mL

# Triglycerides

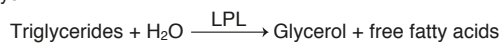
GPO-POD. Enzymatic colorimetric

## Quantitative determination of triglycerides IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Sample triglycerides incubated with lipoprotein lipase (LPL), liberate glycerol and free fatty acids. Glycerol is converted to glycerol-3-phosphate (G3P) and adenosine-5-diphosphate (ADP) by glycerol kinase (GK) and ATP. Glycerol-3-phosphate (G3P) is then converted by glycerol phosphate oxidase (GPO) to dihydroxyacetone phosphate (DAP) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). In the last reaction, hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reacts with 4-aminophenazone (4-AP) and p-chlorophenol in presence of peroxidase (POD) to give a red colored dye:



The intensity of the color formed is proportional to the triglycerides concentration in the sample<sup>1,2,3</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Triglycerides are fats that provide energy for the cell.

Like cholesterol, they are delivered to the body's cells by lipoproteins in the blood. A diet with a lot of saturated fats or carbohydrates will raise the triglyceride levels. The increases in serum triglycerides are relatively non-specific. For example liver dysfunction resulting from hepatitis, extra hepatic biliary obstruction or cirrhosis, diabetes mellitus is associated with the increase<sup>3,6,7</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

<b>R 1</b>	GOOD pH 7,5	50 mmol/L
Buffer	p-Chlorophenol	2 mmol/L
<b>R 2</b>	Lipoprotein lipase (LPL)	150000 U/L
	Glycerolkinase (GK)	500 U/L
	Glycerol-3-oxidase (GPO)	2500 U/L
	Peroxidase (POD)	440 U/L
	4 - Aminophenazone (4-AP)	0,1 mmol/L
Enzymes (Note 2)	ATP	0,1 mmol/L
<b>TRIGLYCERIDES CAL</b>	Triglycerides aqueous primary standard 200 mg/dL	

### PREPARATION

Working reagent (WR): Dissolve (→) the contents of one vial R 2 Enzymes into one bottle of R 1 Buffer.

Cap and mix gently to dissolve contents.

WR stability: 6 weeks at 2-8°C or 1 week at room temperature (15-25°C).

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

#### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm ≥ 0,14.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 505 nm.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

### SAMPLES

Serum or heparinized or EDTA plasma<sup>1</sup>. Stability of the sample: 5 days at 2-8°C.

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 505 nm (490-550)  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Temperature: ..... 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette<sup>(Note 4)</sup>:

	Blank	Standard	Sample
WR (mL)	1,0	1,0	1,0
Standard <sup>(Note 1,3)</sup> (μL)	--	10	--
Sample (μL)	--	--	10

- Mix and incubate for 5 min. at 37°C or 10 min. at room temperature.
- Read the absorbance (A) of the samples and Standard, against the Blank. The colour is stable for at least 30 minutes.

### CALCULATIONS

(A) Sample - (A) Blank  
(A) Standard - (A) Blank

Conversion factor: mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES

Men	40 – 160 mg/dL
Women	35 – 135 mg/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From *detection limit* of 0,000 mg/dL to *linearity limit* of 1200 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

#### Precision:

Mean (mg/dL)	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	103	219	103	217
SD	0,41	0,93	3,74	7,80
CV (%)	0,39	0,43	3,62	3,59

**Sensitivity:** 1 mg/dL = 0,00137 A.

**Accuracy:** Results obtained using on SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0,99760.

Regression equation: y = 0,905x + 10,77.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

No interferences were observed with bilirubin up to 170 μmol/L and hemoglobin up to 10 g/L<sup>2</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with cholesterol determination has been reported by young et al<sup>4,5</sup>.

### NOTES

- TRIGLYCERIDES CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- LCF (Lipid Clearing Factor) is integrated in the reagent.
- Calibration with the aqueous Standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.**

### BIBLIOGRAPHY

- 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.

### PACKAGING

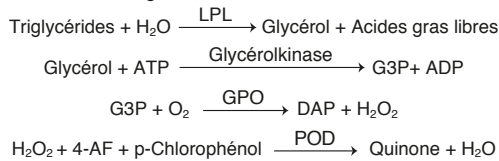
Ref: 1001310	R1: 1 x 50 mL, R2: 5 → 10 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001311	R1: 10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001312	R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001313	R1: 4 x 125 mL, R2: 4 → 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001314	R1: 4 x 250 mL, R2: 4 → 250 mL, CAL: 1 x 5 mL

**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 le 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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par le glycérol phosphate oxydase (GPO). Au final, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 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 <sup>1,2,3</sup>.

**SIGNIFICATION CLINIQUE**

Les triglycérides sont des graisses qui fournissent à la cellule son énergie. Tout comme le cholestérol, ils sont transportés vers les cellules de l'organisme par les lipoprotéines du sang.

Un régime fort en graisses saturés ou en carbohydrates peut élever les niveaux de triglycérides.

Leur augmentation est relativement neutre. Diverses maladies, telles que certaines dysfonctions hépatiques (cirrhose, hépatite, obstruction biliaire) ou diabète mellitus, peuvent être associées à des hausses de triglycérides <sup>3,6,7</sup>.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et de laboratoire.

**REACTIFS**

<b>R 1</b>	GOOD pH 7,5	50 mmol/L
	p-Chlorophénol	2 mmol/L
<b>R 2</b>	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/L
	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500 U/L
	Peroxydase(POD)	440 U/L
	4 - Aminophénazone (4-AF)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L
<b>TRIGLYCERIDES CAL</b>	Étalon primaire de détection de triglycérides 200 mg/dL	

**PREPARATION**

Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 et un flacon de tampon R 1.

Refermer et agiter doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout. Stabilité du RT: 6 semaines au réfrigérateur (2-8°C) ou une semaine à 15-25°C.

**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.

**Indices de détérioration des réactifs:**

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 505 nm ≥ 0,14.

**MATERIEL SUPPLEMENTAIRE**

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

**ECHANTILLONS**

Sérum ou plasma héparinisé ou EDTA <sup>1</sup>. 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
- Pipetter dans une cuvette (Remarque 4):

	Blanc	Étalon	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (Remarque 1, 3) (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger et incubé 5 minutes à 37°C ou 10 min. à température ambiante.
- Lire l'absorption (A) du étalon et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

**CALCULS**

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 200 \text{ (Étalon conc.)} = \text{mg/dL de triglycéride dans l'échantillon}$$

**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, les réactifs et le calibre.

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**

**Gamme de mesures:** 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 NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

**Précision:**

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	103	219	103	217
SD	0,41	0,93	3,74	7,80
CV (%)	0,39	0,43	3,62	3,59

**Sensibilité analytique:** 1 mg/dL = 0,00137 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): 0,99760.

Equation de la Courbe de régression: y=0,905x +10,77.

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

**INTERFERENCES**

Aucune interférence n'a été relevée avec bilirubine jusqu'à 170 µmol/L et hémoglobine jusqu'à 10 g/L <sup>2</sup>.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui peuvent interférer lors de la détermination de la triglycérides <sup>4,5</sup>.

**REMARQUES**

- TRIGLYCERIDES CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de manipuler le produit avec une grande précaution. En effet, il peut être contaminé très facilement.
- Du LCF (Lipid Clearing Factor) est intégré au réactif.
- Le calibre au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- 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. 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.

**PRESENTATION**

Ref: 1001310	R1: 1 x 50 mL, R2: 5 → 10 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001311	R1: 10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001312	R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001313	R1: 4 x 125 mL, R2: 4 → 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001314	R1: 4 x 250 mL, R2: 4 → 250 mL, CAL: 1 x 5 mL



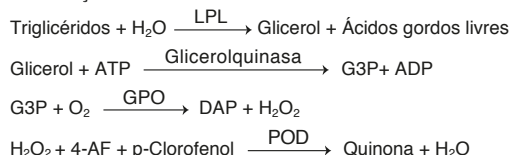
**Determinação quantitativa de triglicéridos IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DO METODO**

Os triglicéridos incubados com lipoproteinolipase (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 hidrogenio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pela glicerol fosfato oxidase (GPO).

No final, o peróxido de hidrogénio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reage com 4-aminofenazona (4-AF) e p-clorofenol, reacção catalizada pela peroxidase (POD) dando uma coloração vermelha:



A intensidade da coloração formada é proporcional á concentração de triglicéridos presentes na amostra testada<sup>1,2,3</sup>.

**SIGNIFICADO CLINICO**

Os triglicéridos são gorduras que fornecem energia á célula. Tal como com o colesterol, são transportados para as células do organismo pelas lipoproteínas do sangue.

Uma dieta alta em gorduras saturadas ou carboidratos pode aumentar os níveis de triglicéridos.

O seu aumento é relativamente inespecífico. Diversas patologias, como certas disfunções hepáticas (cirrose, hepatite, obstrução biliar) ou diabetes mellitus, podem estar associadas com o seu aumento<sup>3,6,7</sup>.

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

**REAGENTES**

<b>R 1</b> Tampão	GOOD pH 7,5 p-Clorofenol	50 mmol/L 2 mmol/L
<b>R 2</b> Enzimas (Nota 2)	Lipoproteino lipase (LPL) Glicerol quinase (GK) Glicerol-3-oxidase (GPO) Peroxidase (POD) 4 - Aminofenazona (4-AF) ATP	150000 U/L 500 U/L 2500 U/L 440 U/L 0,1 mmol/L 0,1 mmol/L
<b>TRIGLICERIDOS CAL</b>	Padrão primário aquoso de Triglicéridos	200 mg/dL

**PREPARAÇÃO**

Reagente de trabalho (RT): Dissolver (→) o conteúdo de um frasco de R 2 Enzimas num frasco de R 1 Tampão.

Tapar e misturar suavemente até dissolução do conteúdo.

RT Estabilidade: 6 semanas no frigorífico (2-8°C) ou uma semana a 15-25°C.

**CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE**

Todos os componentes do kit são estáveis, até ao final do prazo de validade indicado no rótulo, quando mantidos nos frascos bem fechados, a 2-8°C, protegidos da luz e evitando a sua contaminação.

Não usar reagentes após a data indicada.

**Indicadores de deterioração dos reagentes:**

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvâncias do branco a 505 nm ≥ 0,14.

**MATERIAL ADICIONAL**

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

**AMOSTRAS**

Soro e plasma heparinizado ou EDTA<sup>1</sup>. Estabilidade da amostra: 5 dias a 2-8°C.

**PROCEDIMENTO**

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

	Branco	Padrão	Amostra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Padrão (Nota 1,3) (μL)	--	10	--
Amostra (μL)	--	--	10

- Misturar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 min. a temperatura ambiente.
- Ler a absorvância (A) do Padrão e da amostra, frente ao Branco de reagente. A cor é estável no mínimo 30 minutos.

**CÁLCULOS**

(A) Amostra - (A) Branco x 200 (Conc. Padrão) = mg/dL de triglicéridos na amostra  
(A) Padrão - (A) Branco

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

**CONTROLO DE QUALIDADE**

É conveniente analisar juntamente com as amostras, os soros controlo valorizados:

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

Se os valores determinados estiverem fora do intervalo de tolerância, verificar o equipamento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correcções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

**VALORES DE REFERENCIA**

Homens: 40 – 160 mg/dL

Mulheres: 35 – 135 mg/dL

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

**CARACTERISTICAS DO MÉTODO**

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

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

**Precisão:**

	Intrasérie (n=20)		Intersérie (n=20)	
	103	219	103	217
Média (mg/dL)	103	219	103	217
SD	0,41	0,93	3,74	7,80
CV (%)	0,39	0,43	3,62	3,59

**Sensibilidade analítica:** 1 mg/dL = 0,00137 A.

**Exactidão:** Os reagentes SPINREACT (y) não mostram diferenças sistemáticas significativas quando se comparam com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r): 0,99760.

Equação da recta de regressão: y = 0,905x + 10,77.

As características do método podem variar segundo o analisador utilizado.

**INTERFERÊNCIAS**

Não se observaram interferências com bilirrubina até 170 μmol/L e hemoglobina até 10 g/L<sup>2</sup>.

Estão descritas várias drogas e outras substâncias que interferem na determinação dos triglicéridos<sup>4,5</sup>.

**NOTAS**

- TRIGLICERIDES CAL: : Devido á natureza do produto, é aconselhável manuseá-lo com muito cuidado, já que se pode contaminar com facilidade.
- LCF (*Lipid Clearing Factor*) está integrado no reagente.
- A calibração com o padrão aquoso pode dar lugar a erros sistemáticos em métodos automáticos. Neste caso, recomenda-se utilizar calibradores séricos.
- Usar pontas de pipeta descartáveis, limpas para a sua dispensação.
- SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes equipamentos.**

**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: 1001310	R1: 1 x 50 mL, R2: 5 → 10 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001311	R1: 10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001312	R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001313	R1: 4 x 125 mL, R2: 4 → 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001314	R1: 4 x 250 mL, R2: 4 → 250 mL, CAL: 1 x 5 mL