

Utilização prevista

Para a determinação quantitativa *in vitro* de triglicéridos no soro ou plasma utilizando os analisadores Yumizen C230 e Yumizen C240. **Rx Only.**

Relevância clínica

As determinações de triglicéridos são de interesse no diagnóstico e tratamento da aterosclerose, diabetes mellitus mal controlada, nefrose, doença hepática ou outras doenças que envolvam o metabolismo dos lípidos.

Resumo do teste

O método de triglicéridos (GPO) baseia-se na determinação enzimática de glicerol utilizando a enzima glicerol fosfato oxidase (GPO) após hidrólise por lipase lipoproteica. O princípio deste método foi descrito por Fossati¹, que combinou a reação com a clássica sequência de reação de Trinder². Este procedimento de reagente único quantifica os glicéridos totais no soro, incluindo os mono e diglicéridos, e as frações de glicerol livres. Esta abordagem constitui a base deste método.

Princípio

Triglicéridos $\xrightarrow{\text{Lipase}}$ Glicerol + Ácidos gordos

Glicerol + ATP $\xrightarrow{\text{GK}}$ Glicerol-1-fosfato + ADP

Glicerol-1-fosfato + O₂ $\xrightarrow{\text{GPO}}$ DAP + H₂O₂

H₂O₂ + 4-AA + 4-clorofenol $\xrightarrow{\text{POD}}$ Corante de quinoneimina + HCL + 2H₂O

Os triglicéridos séricos são hidrolisados para glicerol e libertam ácidos gordos por lipase. Na presença de ATP e glicerol quinase (GK), o glicerol converte-se em glicerol-1-fosfato. O glicerol-1-fosfato é depois oxidado pela glicerol fosfato oxidase (GPO), produzindo peróxido de hidrogénio. A condensação do peróxido de hidrogénio com 4-clorofenol e 4-aminofenazona (4-AA) na presença de peroxidase (POD) produz um corante de quinoneimina de cor vermelha que absorve a, ou perto de, 500 nm. A intensidade do complexo colorido formado é diretamente proporcional à concentração de triglicéridos da amostra.

Composição do reagente

4-clorofenol 3,5 mM, ATP >0,5 mM, sal de magnésio 10 mM, 4-aminofenazona 0,3 mM, glicerol quinase (microbiana) >250 U/L, glicerol fosfato oxidase (microbiana) >4500 U/L, peroxidase (rábano) > 2000 U/L, lipase (microbiana) >200000 U/L, tampão (pH 7,3 ± 0,1), agentes tensoativos, estabilizadores e conservantes, incluindo azida de sódio (0,01%).

Preparação dos reagentes

O reagente está pronto a utilizar.

Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Armazene o reagente a 2-8°C. O reagente mantém-se estável até à data de validade apresentada no rótulo, quando armazenado conforme indicado. Proteger da luz direta. Evitar a contaminação microbiana.

Não utilize o reagente se:

1. A absorvância inicial do reagente for superior a 0,350 quando medida a 500 nm em relação à água numa cuvete com um centímetro de comprimento.
2. O reagente estiver turvo ou apresentar sinais de contaminação bacteriana.

Precauções

1. Este conjunto de reagentes destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
2. O reagente contém azida de sódio (0,01%) como conservante. Não ingerir. Evitar o contacto com a pele e com os olhos. A azida de sódio pode reagir com canalização de chumbo e cobre, formando azidas de metal explosivas. Aquando da eliminação, escoe com água abundante.
3. Todas as amostras e controlos devem ser manuseados como potencialmente infecciosos. Utilize procedimentos laboratoriais seguros. (NCCLS M29-T2)³

Colheita e armazenamento de amostras

1. O soro fresco, transparente e não hemolisado é a amostra preferível. A amostra deve ser colhida de acordo com as diretrizes do documento NCCLS H4-A3.⁴
2. O soro deve ser colhido após jejum de 12 horas e deve ser separado do coágulo o mais rapidamente possível. Evite anticoagulantes com fluoreto ou oxalato.
3. O soro de plasma pode ser armazenado durante uma semana a 2-8°C ou durante três meses a -20°C.⁵
4. As amostras congeladas devem ser descongeladas à temperatura ambiente e completamente misturadas antes de se proceder à análise. As amostras descongeladas não devem ser novamente congeladas.

Interferências

1. Diversos medicamentos e substâncias afetam a determinação de triglicéridos.^{6,7} Young, et al⁸ publicaram uma lista exaustiva destas substâncias.
2. O método não é influenciado por valores de hemoglobina de até 100 mg/dL ou por valores de bilirrubina de até 12 mg/dL (<5%).
3. Os detergentes podem interferir na ação da lipase. É necessário ter cuidado para evitar a contaminação do equipamento laboratorial com detergentes.

Materiais fornecidos

Reagente de Triglicéridos (GPO)

Materiais necessários, mas não fornecidos

1. Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
2. Manual de utilização do Yumizen C230/Yumizen C240
3. Calibrador de Química Pointe, número de catálogo C7506-50
4. Controlo de Química Pointe, número de catálogo C7592-100

Parâmetros de teste

Teste:	TRIG	Química:	Triglicérido
N.º de química:	230	Nome de imprensa:	Triglicérido
Tipo de reação:	Endpoint	Direção de reação:	Positiva
Onda pri.:	510 nm	Onda sec:	670 nm
Decimal:	0	Tipo de amostra:	Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação:	18 20
Unidade:	mg/dL	Tempo de incubação:	0

	Vol. amostra	Aspirado	Diluído	Vol. reagente	Diluído
Padrão;	2	uL	uL	200	uL uL
Diminuído;		uL	uL	uL	
Aumentado;		uL	uL	uL	

Intervalo de linearidade (padrão);	Limite de linearidade:
0-1000	Redução de substrato:
Intervalo de linearidade	Abs. de branco misturado: - 40000 40000
(diminuído): Intervalo de	Estabilidade no equipamento: 30 Dia(s)
linearidade (aumentado): Abs. de	Limite de alarme do reagente: 5
branco R1: - 40000	

Resposta de branco	- 40000
Verificação prazona:	
Química dupla:	
Q1:	Q2:
Q4:	PC:
	Q3:
	ABS:

Utilizar resultado qualitativo:	
Intervalo:	Referência:

Conjunto de Reagentes de Triglicéridos (GPO) Pointe

Devido a uma ampla variedade de condições (alimentares, geográficas, etárias, etc.) que afetam os intervalos normais, recomenda-se que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de referência.

Desempenho

- Intervalo do ensaio: 0-1000 mg/dL (0-11,3 mmol/L). As amostras que excedem 1000 mg/dL devem ser diluídas com um volume igual de solução salina e novamente submetidas a ensaio. Multiplique o resultado por dois.
- Comparação: Foi feita uma comparação entre os analisadores da série Yumizen 200 e um analisador semelhante utilizando este método em 32 amostras. O coeficiente de correlação foi de 0,997. A análise de regressão linear resultou na seguinte equação: Este método $y = 1,031x - 1,5$.
- Precisão: Foram realizados estudos de precisão utilizando analisadores da série Yumizen 200 na sequência de uma modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.¹⁰

No mesmo dia

Média	D.P.	% C.V.
68,8	1,6	2,3
134,7	2,6	1,9

Entre dias

Média	D.P.	% C.V.
72,3	1,7	2,4
133,4	3,7	2,8

- Sensibilidade: A sensibilidade deste produto foi investigada através da leitura das alterações na absorvância a 500 nm para uma amostra de solução salina e amostras de soro com concentrações conhecidas. Foram realizadas dez réplicas. Os resultados desta investigação indicaram que, no analisador utilizado, este produto exibiu pouco ou nenhum desvio numa amostra zero. Nas condições de reação descritas, 1 mg/dL de triglicéridos resulta numa absorvância de 0,001.

Bibliografia

- Fossati, P., Lorenzo, P., Clin. Chem. 28:2077 (1982).
- Trinder, P., Ann. Clin. Biol. Chem. 6:24 (1969).
- NCCLS Document M29-T2, 2nd. Ed. (1991).
- NCCLS Document H4-A3, 3rd. Ed. (1991).
- Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia, PA, WB Saunders Co. p888 (1986).
- Martin, E., Hazards of Medication, Philadelphia, PA, J.B. Lippincott Co. pp.169-189 (1971).
- Constantino, N.V., Kabat, H., Am. J. Hosp. Pharm. 30:24 (1973).
- Young, D.S., 3rd Ed. AACC Press, Washington DC (1990).
- Rifkin, B.M., JAMA 250:1869 (1983).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	Marcação CE
Rx Only: Utilização apenas mediante receita médica	
Representante autorizado na Comunidade Europeia	

12-T7532-160

Fabricado por
HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188



Representante Europeu Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net

Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.

Desvio de declive:

Declive	Desvio	Unidade
1	0	mg/dL

Pré-tratamento:

Vol. de amostra pré-tratada: uL Vol. de reagente pré-tratado: uL

Intervalo de ref.:

Tipo de amostra: Sexo: Intervalo de idades: Intervalo de ref.: Intervalo crítico: Unidade:

Parâmetros de configuração da calibração

Quím: TRIG

Definição da calibração

Modelo matemático: Linear de 2 pontos

Fator: Réplicas: 2

Limites de aceitação

Tempo cal: 336 hr

Dif declive: DP:

Sensibilidade: Repetibilidade: * Definida pelo utilizador

Deter coef:

Calib. auto.

Tempo cal

Calibrador	Conc.	Pos	N.º do lote
Água	0,0	W	
Cal Quím	*	*	

Limitações

O procedimento é linear a 1000 mg/dL (11,3 mmol/L).

As amostras acima deste limite devem ser diluídas a 1:1 com solução salina e novamente submetidas a ensaio. Multiplique o resultado por 2 para compensar a diluição.

Calibração

Utilize um calibrador de soro rastreável ao NIST. O procedimento deve ser calibrado de acordo com as instruções de calibração do fabricante do instrumento. Se os resultados do controlo estiverem fora do intervalo, o procedimento deve ser novamente calibrado.

Controlo da qualidade

O Controlo de Qualidade padrão deve ser aplicado a este procedimento. Devem ser utilizados controlos disponíveis comercialmente (2 níveis) para monitorizar as variações diárias aceitáveis. Os controlos devem ser submetidos a ensaio no início de cada turno, sempre que for utilizado um número de lote de reagente novo ou na sequência de qualquer manutenção do instrumento. É atingido um nível satisfatório de desempenho quando os valores de analitos obtidos se encontram dentro do intervalo "aceitável" estabelecido pelo laboratório. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser executados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

Cálculo (exemplo)

Os resultados de triglicéridos são expressos em mg/dL ou mmol/L.

Triglicéridos = $\frac{\text{Abs Desc}}{\text{Abs de Pdr}} \times \text{Conc. Pdr}$

Exemplo:

Abs Desc = 0,243

Abs de Pdr = 0,310

Conc. Pdr = 200 mg/dL

Triglicéridos = $\frac{0,243}{0,310} \times 200 \text{ mg/dL}$

Triglicéridos = 157 mg/dL

Nota: Para converter os resultados em unidades do SI (mmol/L), multiplique o resultado (mg/dL) por 0,0113.

Valores esperados

44-148 mg/dL (0,50-1,67 mmol/L)⁹