

Usò previsto

Determinazione quantitativa dei trigliceridi nel siero o nel plasma utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. **Solo su prescrizione.**

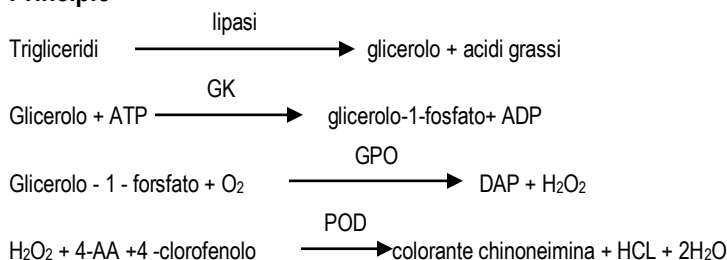
Interesse clinico

La determinazione dei trigliceridi è utile per la diagnosi e il trattamento dell'aterosclerosi, del diabete mellito scarsamente controllato, della nefrosi, delle patologie epatiche o di altre malattie che coinvolgono il metabolismo lipidico.

Procedura di analisi

Il metodo per i trigliceridi (GPO) si basa sulla determinazione enzimatica del glicerolo mediante l'enzima glicerolo fosfato ossidasi (GPO) dopo idrolisi da parte della lipoproteina lipasi. Il principio alla base di questo metodo è stato descritto da Fossati¹ che ha accoppiato la reazione con la classica sequenza di reazione di Trinder². Questa procedura a reagente singolo quantifica i gliceridi totali nel siero, compresi i mono e i digliceridi, e le frazioni di glicerolo libero. Il metodo qui presentato si basa su questo approccio.

Principio



La lipasi idrolizza i trigliceridi sierici in glicerolo e acidi grassi liberi. In presenza di ATP e glicerolo chinasi (GK), il glicerolo viene convertito in glicerolo-1-fosfato. Il glicerolo-1-fosfato viene poi ossidato dalla glicerolo fosfato ossidasi (GPO) per produrre perossido di idrogeno. La condensazione del perossido di idrogeno con il 4-clorofenolo e il 4-aminofenazone (4-AA) in presenza di perossidasi (POD) produce chinoneimina, un colorante rosso che assorbe a 500 nm. L'intensità del complesso colorato che si forma è direttamente proporzionale alla concentrazione di trigliceridi del campione.

Composizione dei reagenti

4-clorofenolo 3,5 mM, ATP >0,5 mM, sale di magnesio 10 mM, 4-aminofenazone 0,3 mM, glicerolo chinasi (microbica) >250 U/L, glicerolo fosfato ossidasi (microbica) >4500 U/L, perossidasi (rafano) > 2000 U/L, lipasi (microbica) >200.000 U/L, tampone (pH 7,3 ± 0,1), tensioattivi, stabilizzanti e conservanti, tra cui sodio azide (0,01%).

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono forniti pronti all'uso.

Conservazione e stabilità dei reagenti

Conservare i reagenti a 2-8°C. Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Tenere al riparo dalla luce. Evitare la contaminazione microbica. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

Non utilizzare il reagente se:

1. L'assorbanza del reagente iniziale è superiore a 0,350 quando misurata a 500nm in presenza di acqua in una provetta con un percorso di 1 cm.
2. Il reagente è torbido o presenta altri segni di contaminazione batterica.

Precauzioni e pericoli

1. Il reagente può essere utilizzato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. Il reagente contiene sodio azide (0,01%) come conservante. Non ingerire. Evitare il contatto con occhi e pelle. Il sodio azide può reagire con rame e piombo e formare un complesso metallo-azide esplosivo. Pertanto per smaltire i residui del reagente occorre diluirli con abbondante acqua.
3. Tutti i campioni e i controlli devono essere trattati come potenzialmente infettivi. Applicare procedure di laboratorio sicure. (NCCLS M29-T2)³

Pericoli:

Classificazione dei pericoli: Sostanza o miscela non pericolosa.

Icone: Non necessarie.

Parole segnale: Non necessarie.

Indicazioni di pericolo: Sostanza o miscela non pericolosa.

Consigli di prudenza: Sostanza o miscela non pericolosa. **Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-T7532) disponibile chiamando il 1-734-487-8300.**

Raccolta e conservazione dei campioni

1. I campioni devono contenere preferibilmente siero fresco, limpido, non emolizzato. Devono essere prelevati come indicato nel documento NCCLS H4-A3.⁴
2. Il siero va prelevato dopo 12 ore di digiuno e separato tempestivamente dal coagulo. Evitare anticoagulanti contenenti fluoro o ossalato.
3. Il siero o il plasma possono essere conservati per una settimana a 2-8°C o per tre mesi a -20°C.⁵
4. I campioni congelati devono essere scongelati a temperatura ambiente e mescolati completamente prima dell'analisi. I campioni scongelati non devono essere ricongelati.

Interferenze

1. Numerosi farmaci e sostanze influenzano la misurazione dei trigliceridi.^{6,7} Young et al.⁸ hanno pubblicato un elenco completo di queste sostanze.
2. Il metodo è influenzato da valori di emoglobina fino a 100mg/dl e di bilirubina fino a 12mg/dl (<5%).
3. I detergenti possono interferire con l'azione della lipasi. Evitare di contaminare le apparecchiature di laboratorio con i detergenti.

Kit reagenti Trigliceridi (GPO) Pointe

Materiali in dotazione

Reagente per trigliceridi (GPO)

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatore Yumizen C560
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
3. Calibratore chimico, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Limitazioni

La procedura è lineare fino a 1000 mg/dl (11,3 mmol/L).

I campioni che superano questo limite devono essere diluiti con pari quantità di soluzione fisiologica e sottoposti a un nuovo dosaggio. Moltiplicare i risultati per 2 per compensare la diluizione.

Calibrazione

Utilizzare il calibratore chimico Pointe (numero di catalogo C7506-50). La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, potrebbe essere necessario effettuare una ricalibrazione. Gli studi sulla stabilità della calibrazione condotti dal produttore mostrano che, in condizioni operative classiche, la curva di calibrazione resta stabile per almeno 14 giorni.

Controllo qualità

Applicare la prassi standard per il controllo di qualità. Utilizzare controlli disponibili in commercio (2 livelli) per monitorare le variazioni giornaliere accettabili. I controlli vanno analizzati all'inizio di ogni turno, ogni volta che si utilizza un nuovo lotto di reagente o dopo qualsiasi manutenzione dello strumento. Si raggiunge un livello soddisfacente di prestazioni quando i valori degli analiti ottenuti rientrano nell'intervallo di "accettabilità" stabilito dal laboratorio. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Valori attesi

44-148 mg/dl (0,50-1,67 mmol/L)⁹

In considerazione dell'ampio ventaglio di condizioni (alimentari, geografiche, anagrafiche, ecc.) che si ritiene incidano sui range di riferimento, si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

Prestazioni

1. Intervallo di analisi: 0 -1000mg/dl (0-11,3 mmol/L). I campioni superiori a 1000 mg/dl vanno diluiti con pari volume di soluzione fisiologica e nuovamente analizzati. Moltiplicare i risultati per 2.
2. Correlazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	Trigliceridi
N	129
Trigliceridi medi (mg/dL)	199,0
Intervallo (mg/dL)	1-835
Deviazione standard	210,5
Analisi di regressione	$y = 0,966x - 8,6$
Coefficiente di correlazione	0,9937

3. Precisione: Gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS.¹⁰

Campione	Intra-giom.			Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20	40	40	40
Media	89,8	197,1	947,6	89,1	192,9	953,6
Deviazione standard	0,6	4,8	4,7	2,5	5,3	17,8
Coefficiente di variazione (%)	0,7%	2,4%	0,5%	2,8%	2,7%	1,9%

4. Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 0 mg/dL

Riferimenti bibliografici

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

PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	TRIG	N.	230	Tipo campione:	Siero
Denominazione:	Trigliceridi			Nome etichetta:	TRIG
Tipo reazione:	End Point			Direzione reazione:	Positiva
Lungh. d'onda prim.:	505			Lungh. d'onda sec.:	660
Unità:	mg/dL			Decimale	0
T. bianco:	10	12		T. reazione:	49 51
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	1.5 ul	— ul	— ul	R1:	150 ul — ul
Decremento :	— ul	— ul	— ul	R2:	— ul -- ul
Incremento:	— ul	— ul	— ul	R3:	— ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input checked="" type="checkbox"/> automat.	Ripetiz.	R4:	— ul --- ul
Regolazione pendenza/ Offset					
Pendenza: 1		Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	0	1000	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento)	—	—	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento)	—	—	Assorb bianco mix:
Assorb bianco R1:	—	—	T. apertura
Risp. bianco:	—	—	Limite allarme reag.:
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

Kit reagenti Trigliceridi (GPO) Pointe

PAMETRI DI CALIBRAZIONE

Definizione calibratore						
Calibratore:	*			N. lotto:	*	
Data di scadenza:	*					
Caricatore		Pos.				
Caricatore campioni 1		*				
Caricatore campioni 2						
Caricatore campioni 3						
Reagente/calibrazione						
<u>Calibratore</u>	<u>Pos.</u>	<u>N. lotto</u>	<u>Data scad.</u>	<u>Analisi</u>	<u>Conc.</u>	<u>Unità</u>
Acqua	W	*	*	TRIG	0	mg/dL
Cal. chim	*	*	*	TRIG	*	mg/dL
Configurazione calibrazione						
Analisi chim.:	TRIG					
<u>Impostazioni calibr.</u>						
Modello mat.:	Two-Point Linear					
Fattore:	Repliche: 2					
<u>Limiti accettabilità</u>						
T. calibr.:	336	h				
Diff. pendenza:	--	DS:		--		
Sensibilità:	--	Ripetibilità:		--		
Coeff. deter.:	--					
<u>Calibr. autom.</u>						
<input type="checkbox"/> Cambio fiasco	<input type="checkbox"/> Cambio lotto	<input type="checkbox"/> Ora cal.				

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-T7532-480



Prodotto da
HORIBA Instruments Incorporated-Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:
Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53
1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg) **LOT** Codice lotto e gruppo **REF** N. catalogo

Fabbricante Limitazioni di temperatura Consultare il manuale di istruzioni