

TRIGLICÉRIDOS (LÍQUIDO)

Uso:

Para la determinación cuantitativa in vitro de triglicéridos en suero o plasma.

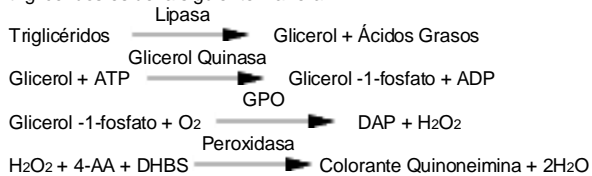
Introducción:

Los triglicéridos son ésteres de ácidos grasos y son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres. La determinación de triglicéridos cuando se realizan en conjunto con otros análisis de lípidos son útiles en el diagnóstico de hiperlipoproteïnemia primaria y secundaria. También son de interés en el seguimiento del curso de la diabetes mellitus, nefrosis, obstrucción biliar y varias anomalías metabólicas debidas a alteraciones endocrinas.

Los métodos estándar para la medición de las concentraciones de triglicéridos han implicado ya sea la hidrólisis enzimática o alcalina para liberar glicerol. Esta formulación hace uso de la hidrólisis enzimática y la cuantificación ya que es específico y no sujeto a interferencia por fosfolípidos.¹

Principio:

La secuencia de reacción enzimática empleado en el ensayo de triglicéridos es de la siguiente manera:



El procedimiento presente consiste en la hidrólisis de los triglicéridos por la lipasa. La concentración de glicerol se determina entonces mediante análisis enzimático acoplado con la reacción de Trinder que termina en la formación de un colorante quinoneïmina. La cantidad del colorante formado, determinado por su absorción a 520 nm, es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en las muestras.^{2,3}

Composición del Reactivo:

Reactivo líquido de triglicéridos contiene lo siguiente:

1. ATP 0,5 mmol/L, acetato de magnesio 12 mmol/L, 4-clorofenol 3,5 mmol/L, 4- Aminophenazone 0,3 mmol/L, glicerol fosfato oxidasa >4500 U/L, lipasa >200,000 U/L, glicerol quinasa >250 U/L, peroxidasa >2000 U/L, buffer (pH 7.4) 50 mmol/L, surfactantes, estabilizantes, y conservantes.

Advertencias y Precauciones:

1. Para uso diagnóstico in vitro solamente.
2. Evitar la ingestión de reactivo porque su toxicidad aún no se ha determinado.
3. Todas las muestras y controles deben ser considerados infecciosos y manejados adecuadamente.
4. El reactivo contiene azida de sodio como preservativo. Éste puede reaccionar con el cobre o tuberías de plomo para formar azidas metálicas explosivas. Al desecharla, utilice gran cantidad de agua para evitar la acumulación de azidas.

Preparación de los Reactivos:

Reactivo de triglicéridos se proporcionan en una forma lista para usar. No se requiere preparación.

Almacenamiento y Estabilidad:

El reactivo de triglicéridos debe almacenarse a 2-8°C. El reactivo puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase cuando se almacena de la forma indicada. Proteger de la luz directa. Evite la contaminación microbiana.

Deterioro de los Reactivos:

El reactivo debe desecharse si:

1. La absorbancia inicial del reactivo contra el agua es mayor que 0,500, cuando se mide a 520 nm.

2. El reactivo no cumple con las reclamaciones de linealidad o no recupera los valores establecidos.

Nota: La coloración amarilla o rosada es normal.

3. El reactivo está turbio o muestra evidencia de contaminación bacteriana.

Recogida de Muestras:

1. Se recomienda suero fresco, claro, no hemolizado de pacientes en ayunas.
2. Los triglicéridos en el suero permanecen estables durante tres (3) días cuando se almacenan a 2-8°C.
3. No se recomienda el almacenamiento prolongado de las muestras a temperatura ambiente ya que otros compuestos que contienen glicerol pueden hidrolizarse, liberando glicerol libre.
4. Dispositivos de recolección de sangre lubricados con glicerina (glicerol) no se deben utilizar.

Interferencias:

El glicerol en tapones de goma o material de vidrio contaminado elevará los niveles de triglicéridos. Las muestras lipémicas o gravemente ictericas causarán resultados falsamente elevados por lo tanto un blanco de paciente se debe procesar. Las muestras muy hemolizadas o con valores altos de bilirrubina producirán valores de triglicéridos falsamente elevados. Una serie de fármacos y sustancias afectan la medición de triglicérido.⁵

Materiales Suministrados:

1. Triglicéridos GPO Reactivo Líquido

Materiales Necesarios pero no Suministrados:

1. Espectrofotómetro capaz de medir las absorbancias a 500-550 nm.
2. Tubos de ensayo y bastidores.
3. Dispositivos de pipeteado preciso.
4. Incubadora con temperatura constante a 37°C.
5. Reloj Cronómetro.

Instrucciones Generales:

El reactivo de triglicérido es para uso ya sea como un procedimiento automatizado en instrumentos de química o como procedimiento manual en un espectrofotómetro adecuado.

Procedimiento Automatizado:

Consulte el manual del instrumento para la aplicación apropiada.

Procedimiento Manual:

1. Identifique los tubos de ensayo: "Blanco", "Estándar", "Control", "Paciente", etc.
2. Pipetear 1.0 mL de reactivo en todos los tubos.
3. Colocar todos los tubos en un bloque de calentamiento a 37°C durante al menos 4 minutos.
4. Añadir 0.010 mL (10 µL) de muestra a los tubos respectivos y mezclar.
5. Incubar todos los tubos durante cinco (5) minutos a 37°C.
6. Cero el espectrofotómetro a 520 nm con blanco de reactivo (rango de longitud de onda: 500-550 nm).
7. Leer la absorbancia de todos los tubos.

Nota: El color final es estable durante sesenta (60) minutos a temperatura ambiente.

*UN CALIBRADOR MULTIUSO PUEDE SER USADO PARA REEMPLAZAR EL ESTÁNDAR.

Limitaciones de Procedimiento:

El reactivo es lineal a 1000 mg/dL (11.4 mmol/L).

Las muestras por encima de este límite se deben diluir 1:1 con agua, volverse a analizar y multiplicar los resultados por 2 para compensar la dilución.

Control de Calidad:

Se recomienda que los controles se incluyan en cada serie de análisis. Material de control comercialmente disponible con los valores establecidos de triglicéridos puede ser utilizado para el control de calidad. El valor asignado del material de control debe ser confirmado por la aplicación elegida. Si no se obtiene el rango apropiado de

valores en el ensayo del material de control puede indicar deterioro del reactivo, mal funcionamiento de instrumentos, o errores de procedimiento.

Cálculos:

Los resultados de Triglicéridos se reportan en mg/dL.

A = Absorbancia

$A(\text{Paciente}) \times \text{Conc. Estándar (mg/dL)} = \text{Conc. del Paciente (mg/dl)}$

A (Estándar)

Ejemplo:

$$\frac{0.24}{0.31} \times 200 \text{ mg/dL} = 154.8 \text{ mg/dL}$$

Nota: Para convertir los resultados en unidades SI (mmol/L), multiplicar el resultado (mg/dL) por 0.0113.

Valores esperados:

36-165 mg/dL.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

Características de Rendimiento:

1. Linealidad: 1000 mg/dL.
2. Sensibilidad: Basado en un instrumento de resolución de A=0.001, este procedimiento tiene una sensibilidad de 1.3 mg/dL.
3. Comparación: Un grupo de 91 sueros que van en los valores de triglicéridos de 12 a 1030 mg/dL se analizaron por este método y por un reactivo similar disponible comercialmente. La comparación de los resultados arrojó un coeficiente de correlación de 0.997 y la ecuación de regresión fue $y = 0.946x + 5.373$. (Los estudios de comparación se llevaron a cabo de acuerdo al NCCLS Directriz Provisional EP9-T).
4. Precisión:

Entre Corridas:

	Suero 1	Suero 2
Promedio (U/L)	43.0	127.0
Desviación Estándar (U/L)	1.19	3.83
CV %	2.78	3.02

Corrida a Corrida:

	Suero 1	Suero 2
Promedio (U/L)	42.3	124.1
Desviación Estándar (U/L)	1.99	4.12
CV %	4.71	3.32

Referencias:

1. Searcy, RL: Diagnostic Biochemistry, McGraw-Hill, New York (1969).
2. Fossati, P., Principio, L.: Clin. Chem. 28:2077 (1982).
3. McGowan, M. W., et al.: Clin. Chem. 29:538 (1983).
4. Wybenga, DR Y Inkpen, JA: Clinical Chemistry: Principles and technique, Harper and Row, Hagerstown, MD 1460 (1974).
5. Young, DS, Pestaner, LC y Gibberman, V.: Clin. Chem. 21:11 (1975).
6. Sisson, JA: Handbook of Clinical Pathology, J.B. Lippincott Co, (1976).
7. Tiffany, T. O., et al. Clin. Chem., 20:476 (1974).

