

Método

Enzimático (Trinder).

Finalidade

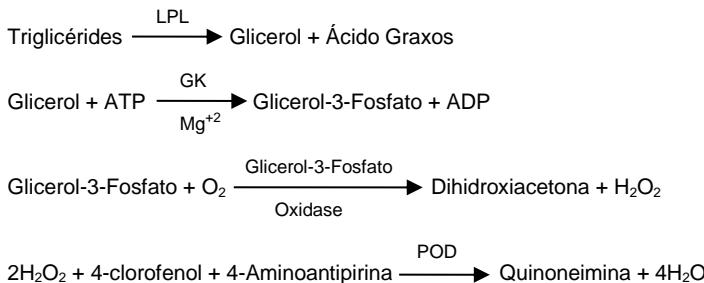
Sistema enzimático para a determinação dos Triglicérides no soro e plasma, por reação de ponto final. **Somente para uso diagnóstico in vitro.**

Princípio

A lipoproteína lipase hidrolisa os triglicérides liberando o glicerol que é convertido em glicerol-3-fosfato pela ação da glicerolquinase formando glicerol-3-fosfato, que é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio por ação da glicerolfosfato oxidase.

Através de reação de junção entre o peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina (4-AMP) e 4-clorofenol, catalisada pela peroxidase produzindo uma quinoneimina de cor vermelha.

A absorbância do complexo medida em 505 nm é diretamente proporcional à concentração de triglicérides na amostra.



Significado Clínico

Os triglicérides são ésteres de glicerol e ácidos graxos sintetizados no fígado ou procedentes da alimentação, e são utilizados como fonte de energia celular. Valores elevados representam um fator de risco para doença coronariana isquêmica (DCI). São verificados valores aumentados em várias patologias como nas doenças cardiovasculares, doenças hepatobiliares, pancreatite, no diabetes mellitus, síndrome nefrótica, uremia, hipotireoidismo e alcoolismo crônico.

Níveis altos de triglicérides podem apresentar em gestantes ou com uso de anticoncepcionais. A hipertrigliceridemia encontra-se associada também ao uso de corticosteroides, diuréticos tiazídicos, retinóides e bloqueadores beta-adrenérgicos.

Reagentes

Reagente nº 1 – Reagente de Cor - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Fosfato 100 mmol/L (pH 6,3), 4-Cloro Fenol 5 mmol/L, Lipoproteína Lipase < 2500 U/L, Glicerol Quinase < 1500 U/L, Peroxidase < 2000 U/L, 4-Aminoantipirina 0,9 mmol/L, ATP 1,5 mmol/L, Glicerol-3-Fosfato Oxidase < 4000 U/L, Azida Sódica 0,1 g/dL.

Reagente nº 2 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Manter vedado para evitar evaporação. Contém: Triglicérides 100 mg/dL, e conservante Azida Sódica 0,05 g/dL.

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não excede 30°C, até um limite de 120 horas. **Não congelar.**

Cuidados Especiais e Precauções

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Reagente de Cor (1) e o Padrão (2) contêm azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.

- Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analíador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiras;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro;
- Banho-maria.

Amostra

Soro ou plasma com EDTA. O analito no soro ou plasma é estável por 12 horas armazenada entre 15 e 25°C e 3 dias entre 2 e 8°C quando livres de contaminação.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

O consumo de álcool, dieta, variações do peso corporal e exercício físico influenciam na variação dos valores da concentração de triglicérides em um mesmo indivíduo. Recomenda-se obter a amostra com o paciente assentado. A contaminação do material utilizado com glicerol fornece resultados falsamente elevados.

O uso de ácido ascórbico (vitamina C) produzem interferências negativas por competição com o cromogênio na reação da peroxidase.

Concentrações de bilirrubina até 13,5 mg/dL, hemoglobina até 655 mg/dL não produzem interferências significativas. Presença de ácido ascórbico mesmo que discreta produzem interferências significativas nas amostras.

Preparação dos Reagentes

Reagentes prontos para uso.

Procedimento Técnico

Equipamentos Automáticos

Para uso em analisadores automáticos, verificar o protocolo de automação no site www.bioanalitica.com.br ou através do SAC.

Nota: Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

Método de Ponto Final

Identificar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Amostra	---	10 µL	---
Padrão (2)	---	---	10 µL
Reagente de Cor (1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 10 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 505 nm (490 - 540 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 60 minutos.

Cálculos

Triglicérides (mg/dL) = (Absorbância da Amostra ÷ Absorbância do Padrão) x Concentração do Padrão

Fator de Calibração = Concentração do Padrão ÷ Absorbância do Padrão

Exemplo com Padrão

Absorbância da Amostra = 0,198

Absorbância do Padrão = 0,125

Concentração do Padrão = 100 mg/dL

Triglicérides = (0,198 ÷ 0,125) x 100 = 158,4 mg/dL

Exemplo com Fator de Calibração

Fc = 100 ÷ 0,125 = 800

Triglicérides = 0,198 x 800 = 158,4 mg/dL

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano com valores entre 40 e 648.

Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = $4,504 + 0,937^*$ Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,992.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo Triglicérides, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 2,3500 mg/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,3414 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 3,3742 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 900 mg/dL. Para amostras com valores acima de 900 mg/dL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	71,31	134,77	447,78
Desvio Padrão (mg/dL)	0,40	0,51	4,88
Coeficiente de Variação (%)	0,57	0,38	1,09

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	37,50	109,3	434,81
Desvio Padrão (mg/dL)	1,94	3,48	3,70
Coeficiente de Variação (%)	5,17	3,19	0,85

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Adulto	
Triglicérides – mg/dL	
Valor desejável	< 150
Limítrofe elevado	150 - 199
Elevado	200 - 499
Muito elevado	> 500

Crianças e Adolescentes		
Triglicérides – mg/dL		
	menor de 10 anos	10 a 19 anos
Desejável	≤ 100	≤ 130
Elevado	> 100	> 130

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI) multiplicar por 0,0113.

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/ cm ou condutividade < 1 microsiemens /cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens. No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

- 1 - Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. Clin. Chem. 1981; 27: 493-501.
- 2 - Virella MFL, Stones P, Ellis S, Colwell G. Clin Chem 1977;23:882-884.
- 3 - Fossati P, Prencipe L. Clin Chem 1982; 28:2077.
- 4 - Bucolo G, David H. Clin Chem 1973;19:475,476.
- 5 - Nagele V, Hagele E O, Sauer G, Wiedeman E, Lehmann P, Wahlefeld AW, Gruber W J Clin Chem Clin Biochem 1984; 22:165.
- 6 - Mc Gowan MW, Artiss JD, Strandbergh DR, Zak B. Clin Chem 1983;29:538.
- 7 - Trinder P. Ann Clin Biochem. 1969; 6:24.
- 8 - Stein EA, Myers GL. Clin Chem 1995; 41:1421-1426.
- 9 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentações

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA379-200	200 mL	2 x 100 mL	1 x 3 mL
BA379-400	400 mL	4 x 100 mL	1 x 3 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União
CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil
Tel. +55 31 3657-0051
www.bioanalitica.com.br
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br
CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira
SAC: 0800 006 8111
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.