



## QUIMITRI - Triglicérides

### GPO/Peroxidase

REG. MS: 10159820252

#### EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho

São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811

CEP 03059-001 | Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

#### RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110

sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão: Agosto/2023

**FINALIDADE.** Reação enzimática para determinação quantitativa de triglicérides no soro e plasma. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

**PRINCÍPIO.** O triglicérides da amostra e hidrolisado pela lipase a glicerol e ácidos adiposos. O glicerol é então fosforizado pelo ATP (adenosinatri-fosfato) ao G-3-P (glicose-3-fosfato) e adenosina-5- difosfato em uma reação catalisada pelo glicerol quinase (GK). A glicose-3-fosfato e então convertida em dihidroxiacetona fosfato (DAP) e peróxido de hidrogênio pela GPO (glicerol fosfato oxidase). O peróxido de hidrogênio então reage com 4-aminoantipirina (4-AAP) e 4-clorofenol em uma reação catalisada pela peroxidase para formar um complexo colorido (vermelho). A intensidade de cor vermelha formada é diretamente proporcional a concentração de triglicérides na amostra quando medido em 500 nm.



#### METODOLOGIA. GPO/Peroxidase

**SIGNIFICADO CLÍNICO.** O teste é útil na avaliação do metabolismo lipídico, uma vez que, os triglicérides constituem um dos componentes lipídicos das lipoproteínas séricas juntamente com o colesterol e fosfolípidos. A Consensus Conference sugeriu que pessoas com valores plasmáticos de triglicérides em jejum entre 250 a 500 mg/dL apresentam um problema diferente porque, no conjunto, tais níveis estão associados com uma incidência duas vezes maior de doença cardiovascular. Esses são os casos com colesterol mais altos em condições associadas com a presença ou níveis elevados de LDL. Num paciente, esses níveis de triglicérides podem ser normais ou indicador de risco aumentado. Se confirmado por determinações repetidas, isso exige uma maior investigação do paciente que possua uma história familiar de doença cardiovascular prematura ou outros fatores de risco para doença cardíaca como níveis elevados de colesterol, hipertensão, tabagismo, obesidade ou uma causa secundária de triglicérides elevados. Sua elevação também denota dislipidemia primária ou secundária a diabetes mellitus, síndrome nefrótica, uremia e obstruções biliares.

#### REAGENTES.

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2-8 °C. Contém:

Pipes 45 mmol/L, 4 clorofenol 6 mmol/L, acetato magnésio 5 mmol/L, lipase > 100 U/mL, glicerol quinase > 1,5 U/mL, glicerol-3- fosfato oxidase > 4 U/mL, peroxidase > 0,8 U/mL, 4-aminoantipirina 0,75 mmol/L, ATP 0,9 mmol/L, pH 7,0.

Padrão (cód.: 3014): Conservar entre 2-8°C. Solução aquosa contendo concentração padrão de triglicérides rastreável ao Material de Referência Padrão proposto pelo NIST. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

#### PRECAUÇÕES E CUIDADOS REQUERIDOS.

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante (0,01%). Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se o reagente estiver visualmente turvo, se a absorbância do branco ultrapassar 0,150 quando medido a 500nm (cuveta 1 cm) e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

#### MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO.

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 500 nm (480 - 520nm).
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Calibrador e soros controle.
6. Cronômetro.

**AMOSTRA.** Soro colhido recentemente e não hemolisado, plasma (colhido com heparina, EDTA, oxalato ou fluoreto). O triglicérides no soro é estável por 5 dias se for mantido à temperatura de 2 a 8°C. Não armazenar à temperatura ambiente (< 25 °C), pois os fosfolípidos podem hidrolizar, liberando glicerol livre elevando falsamente os valores de triglicérides.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

#### INTERFERÊNCIAS.

- Bilirrubina até 2,5 mg/dL e hemoglobina até 10 g/L não interferem significativamente no resultado.
- Tampas de borracha contendo glicerol não devem ser usadas. Alguns detergentes interferem com a reação ao produzir um precipitado ou coloração vermelha. A vidraria deverá ser enxaguada por diversas vezes.
- Algumas drogas e substâncias afetam a exatidão do triglicérides, sugerimos consultar Young et al.

#### PARÂMETROS DO SISTEMA:

Temperatura	37°C
Comprimento de Onda	500 nm (480 - 520nm)
Tipo de Reação	ponto final
Direção	Crescente
Relação Amostra x Reativo	1:100
Vol. Amostra	10 µL
Vol. Reagente	1,0 mL
Tempo de Incubação	5 minutos

**CALIBRAÇÃO.** Utilizar Quimicalib Ebram Cód.7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit, para kits com padrão. A concentração de triglicérides no Quimicalib é rastreável ao NIST 909c/NIST 1951c e no padrão ao SRM 909b.

**PROCEDIMENTO AUTOMATIZADO.** Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

## PROCEDIMENTO MANUAL.

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	1. Branco	2. Padrão	3. Amostra/S.C.
Água destilada	10µL	-	-
Padrão/S.C	-	10µL	-
Amostra	-	-	10µL
Reagente	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 5 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

3. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 500 nm (480-520nm) proceder as leituras registrando as absorvâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.). A reação é estável por 2 horas.

\* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0.01 mL (10 µL) de amostra a 1.0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorvância contra água. Subtraia este valor da absorvância do paciente para obter a leitura corrigida.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

## CÁLCULOS.

(Abs.=Absorvância) (Conc. = Concentração)

$$\text{Triglicérides da Amostra (mg/dL)} = \frac{\text{Abs. Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{Conc. do padrão (mg/dL)}$$

## EXEMPLO:

Abs. da amostra = 0.300

Abs. do padrão = 0.200

Conc. do padrão = 200 mg/dL

$$\text{Triglicérides Amostra} = \frac{0.300}{0.200} \times 200$$

Triglicérides Amostra = 300 mg/dL

**LINEARIDADE.** Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 600 mg/dL. Amostras com valores superiores a 600 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficar entre 1,6 e 600 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

**CONTROLE DE QUALIDADE.** Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

## VALORES ESPERADOS.

Caninos: 20 - 112 mg/dL

Felinos: 10 - 114 mg/dL

Bovinos: 0 - 14 mg/dL

Equinos: 4 - 44 mg/dL

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

**ESTUDOS COMPARATIVOS.** Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados:

Número de amostras	47
Intervalo dos resultados	8 - 600 mg/dL
Coefficiente de Correlação	0,9994
Inclinação	1,021
Intercepta	3,5 (mg/dL)

**PRECISÃO.** Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 20 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=20	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	127	191
D.P. (mg/dL)	2,3	1,1
C.V. (%)	1,8	0,8

**EXATIDÃO.** As amostras foram processadas em duplicata por 10 dias consecutivos, duas vezes por dia. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	128	237
D.P. (mg/dL)	3,3	2,8
C.V. (%)	3,0	2

**SENSIBILIDADE METODOLÓGICA.** 1,6 mg/dL

**ESPECIFICIDADE.** Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

## OBSERVAÇÕES.

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq 1$  mega ohm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  megaohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

## APRESENTAÇÃO.

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL + 1 x 1,0mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

1. Trinder, P., Ann. Clin. Biochem 6:24(1969);
2. Wieland, O., Methods of Enzymatic Analysis, H. O. Bergmayer, Ed. Academic Press p.p. 211 - 214 (1963);
3. Eggstein, M. Kreutz, F. H. Kli. Wochenschr. 44:262 (1965);
4. Bucolo, G. David. H. Clin. Chem. 19:656 (1973);
5. Megraw, R., et. Al. Clin. Chem. 25:273 (1979);
6. Barham, D. Trinder, P. Analyst 97:142 (1972);
7. Fossati, P., Prencipe, L., Clin. Chem. 28:2077 (1982);
8. McGowan, MW., et. Al. Clin Chem. 29:538 (1983);
9. Young, D.S. et al, Clin. Chem. 21:1D (1976);
10. Sisson, J. A., Handbook of Clinical Pathology., J. B. Lippincott Co., (1976).

## SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO
 USO VETERINÁRIO		