

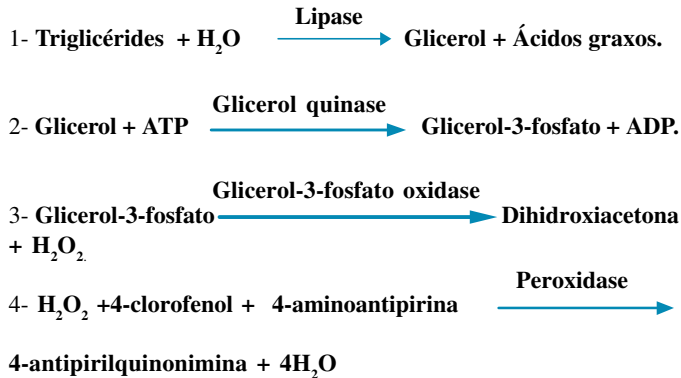
FINALIDADE

Sistema enzimático para determinação dos triglicérides no plasma ou soro.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO

Os triglicérides no soro são quantificados através das seguintes reações enzimáticas:



O produto formado pela oxidação da 4-Aminoantipirina (4-Antipirilquinonimina) é de coloração avermelhada e sua intensidade diretamente proporcional à concentração de triglicérides no soro. A cor vermelha formada pela reação é medida em espectrofotômetro ou fotocolorímetro com absorção máxima em **510nm** ou **filtro verde**.

REAGENTES

Reagente de Cor: Pipes 50mmol/L, pH 7,5 contendo 6mmol/L de 4-clorofenol, Cloreto de Magnésio 5mmol/L, 4-Aminoantipirina 0,75mmol/L, ATP 0,9mmol/L, Lipase $\geq 2.200.000$ nkat/L, Glicerol Quinase ≥ 25.000 nkat/L, Glicerol-3-Fosfato Oxidase ≥ 67.000 nkat/L e Peroxidase ≥ 13.800 nkat/L.

Solução padrão 200mg/dL: solução de glicerol estabilizado equivalente a 200mg/dL em termos de trioleína.

APRESENTAÇÃO

Reagente de Cor 2 x 100mL
Solução Padrão 1 x 3mL

NÚMERO DE TESTES

Manual 100 testes - 20µL amostra
200 testes - 10µL amostra
Automático 800 testes

Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro capaz de medir a absorvância em 510nm ou filtro verde.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipetas semiautomáticas 10µL /20µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Banho maria(37°C).
- Cronômetro.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Reagente de Cor : armazenar à temperatura de 2-8°C, até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco. Ao longo do tempo, a solução pode adquirir tonalidade rósea, não interferindo nos resultados.

Solução padrão 200mg/dL: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Reativos para **uso diagnóstico *in vitro***, devendo-se portanto manuseá-los com cuidado, evitando o contato com a pele e mucosas. O Reagente de Cor contém em sua formulação 4-clorofenol (cáustico) e azida sódica. Em caso de contaminação acidental, lavar abundantemente a parte afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

O Reagente de Cor deve ser manipulado com cuidado, evitando a introdução de pipetas no mesmo. Pipetas contaminadas com detergentes podem levar à deterioração do mesmo.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

AMOSTRA

Soro ou plasma (colhido com EDTA/heparina).

Os triglicérides são estáveis na amostra por 4 a 5 dias sob refrigeração(2-8°C). Mantendo-se a amostra congelada (10°C negativos), a estabilidade se prolonga por 60 dias, devendo ser descongelada apenas uma vez. O sangue deve ser colhido após jejum de 12-14 horas.

Coletas pós-prandiais mostram variações superiores a 100% sobre o triglicérides basal.

O consumo habitual de álcool é seguido de elevação nos níveis de triglicerídes sérico. Recomenda-se a não ingestão de álcool nas 72 horas que antecedem a coleta.

As amostras lipêmicas devem ser homogeneizadas antes da pipetagem.

Todas as amostras biológicas deverão ser consideradas como potencialmente infectantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

O Reagente de cor é pronto para uso, e deve estar a temperatura ambiente no momento do uso.

Identificar 03 tubos com **B(branco),P(padrão) e T(teste)**.

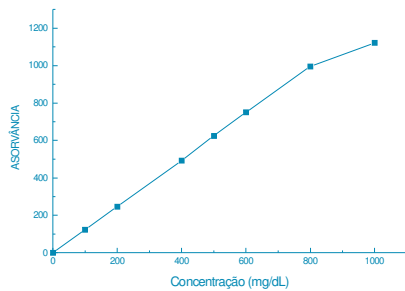
Proceder como segue:

	Branco	Padrão	Teste
Reagente de Cor	2mL	2mL	2mL
Padrão	-	20µL	-
Amostra	-	-	20µL

Misturar por agitação e incubar 5 minutos em banho maria a 37°C ou por 15 minutos à temperatura ambiente (20 - 30°C). Proceder à leitura das absorvâncias em espectrofotômetro ou fotocolorímetro em **510nm** (510 - 530nm), zerando o aparelho com o branco. A cor desenvolvida permanece estável por 60 minutos à temperatura ambiente (20-30°C).



CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mg/dL)
1	0.000	0
2	0.123	100
3	0.246	200
4	0.492	400
5	0.625	500
6	0.750	600
7	0.996	800
8	1.122	1000

Obs.: Não utilizar esta curva para determinar o resultado de seu ensaio.

- A curva de calibração é constituída pela relação gráfica dos valores das absorvâncias com os valores das concentrações, de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos: (1) preparação das soluções padrão; (2) medições dos valores de absorvância das soluções padrões de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso e (3) preparação de um gráfico, usando papel especial, em que se relacionam absorvância com concentração. A figura acima mostra um exemplo de curva de calibração relacionando absorvância com concentração. Sendo a absorvância relacionada linearmente com a concentração, o gráfico deverá ser feito em papel linear.

As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro "Ultrospec III", Pharmacia Biotec, comprimento de onda de 510nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.

- A curva de calibração demonstra a linearidade da reação até uma determinada concentração, na qual pode ser determinado um fator de calibração (F) de acordo com a Lei de Beer. As curvas de calibração são utilizadas para substituir os cálculos matemáticos na determinação das concentrações das amostras. A leitura da amostra é localizada no gráfico apropriado e a concentração correspondente é determinada a partir da curva, contudo tal procedimento é válido se a leitura da amostra estiver no intervalo da linearidade da reação.
- A reação é linear até 800mg/dL (ver curva acima). Para valores acima, diluir a amostra com solução fisiológica e proceder a nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**
- O kit de Triglicérides Enzimático Líquido Doles, possui padrão no intervalo de linearidade da metodologia, podendo o laboratório realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit, calculando seu fator de calibração (F) de acordo com o exemplo exposto abaixo.**
- O fator deve ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.**
- Os padrões utilizados na montagem da curva foram ajustados tendo como referência: Human Serum 909b (NIST).**

CÁLCULOS

$$\text{Triglicérides (mg/dL)} = \frac{\text{Absorvância Teste}}{\text{Absorvância Padrão}} \times 200$$

Exemplo:

Leituras:

Padrão : 0.246

Teste : 0.190

$$\text{Triglicérides (mg/dL)} = \frac{0.190}{0.246} \times 200$$

$$\text{Triglicérides (mg/dL)} = 154$$

Seguindo a reação corada a lei de Beer, basta a determinação de um fator(F) para cálculo dos resultados.

$$\text{Fator} = \frac{200}{\text{Absorvância}}$$

$$\text{Triglicérides (mg/dL)} = \text{absorvância Teste} \times \text{F}$$

Para a determinação do fator, recomenda-se dosar em triplicata o padrão, ler as absorvâncias e tirar a média aritmética das mesmas.

Exemplo:

Leituras:

Padrão : 0.245; 0.246; 0.247

$$\text{Média aritmética} = \frac{0.245 + 0.246 + 0.247}{3} = 0.246$$

$$\text{Fator} = \frac{200}{0.246} = 813$$

$$\text{Triglicérides (mg/dL)} = 0.190 \times 813 = 154$$

EXPRESSÃO DO RESULTADO EM UNIDADES S. I.

$$\text{Triglicérides(mmol/L)} = \text{Triglicérides(mg/dL)} \times 0,0113$$

LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido, conforme instruções de uso. Qualquer alteração no procedimento poderá levar a resultados errôneos.
- O uso de algumas drogas podem induzir aumento dos níveis de triglicérides, incluindo-se entre as mesmas, estrógenos, contraceptivos orais, diuréticos tiazídicos e beta-bloqueadores adrenérgicos.
- O fator deve ser feito periodicamente, recomenda-se nova padronização a cada novo lote.
- Os testes devem ser realizados nas mesmas condições em que foi realizada a padronização.

CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

- A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser de boa qualidade.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes que deterioram os reagentes.
- As pipetagens devem ser precisas.
- O nível da água do banho maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio. A temperatura (37°C) deve ser rigorosamente observada.
- O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).

VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça, na população atendida, sua própria faixa de valores de referência. Como orientação sugerimos os seguintes valores:

Triglicérides	Valores (mg/dL)	Classificação
< 10 anos de idade	≤ 100	Desejável
	> 100	Alto
10 a 19 anos de idade	≤ 130	Desejável
	> 130	Alto
Adultos (> 20 anos de idade)	< 150	Ótimo
	150 a 200	Limítrofe
	200 a 499	Alto
	≥ 500	Muito Alto



SIGNIFICADO CLÍNICO

Atualmente, a principal aplicação da determinação dos triglicerídeos é na tipagem das dislipidemias. Os triglicerídeos são encontrados nos quilomícrons e VLDL.

Níveis elevados de triglicerídeos tendem a estar relacionados com risco aumentado de cardiopatia coronariana. A obesidade, o estresse emocional, certas dietas e algumas doenças como diabetes, pancreatite aguda, síndrome nefrótica, uremia, alcoolismo, gravidez, hipotireoidismo e mieloma múltiplo, aumentam os níveis dos triglicerídeos.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Foram realizados 40 testes em amostras cujo teor de triglicerídeos se situava no intervalo de 48,2 a 1329mg/dL. Estes ensaios foram realizados em paralelo com um produto de referência de mesma metodologia (GPO- Trinder). A comparação do kit de Triglicérides Enzimático Líquido Doles (Y) com o produto de referência (X), deu origem à seguinte equação de regressão linear: $Y = 2,5 + 0,99X$, sendo o coeficiente de correlação de 0,99.

Testes de recuperação mostram que a mesma situa-se entre 98,6 e 101,3%

Repetitividade:

Foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 3 amostras com os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	88,18	265,12	450,9
Desvio Padrão	1,66	3,7	5,1
Coefficiente de Variação (%)	1,88	1,39	1,13

Reprodutibilidade:

foram realizadas 20 dosagens durante 20 dias consecutivos, em 3 amostras, tendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	90,94	299,14	489,73
Desvio Padrão	3,32	5,24	7,64
Coefficiente de Variação (%)	3,65	1,75	1,56

Especificidade: a presente metodologia é específica para determinação dos triglicérides.

Sensibilidade: a absorvância achada de 0,012 corresponde a 1mg/dL de concentração de triglicerídeos séricos quando se utiliza um espectrofotômetro com banda espectral inferior a 7nm, cubetas com 10mm de passagem de luz e comprimento de onda de 510nm. A sensibilidade do método está diretamente relacionada a sensibilidade do aparelho utilizado para leitura.

Diluição da Matriz: estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que as mesmas não interferem na presente metodologia.

Substâncias interferentes: não utilizar amostras hemolisadas, pois as hemácias são ricas em substâncias cromógenas. Amostras ictericas produzem resultados falsamente baixos, pois a bilirrubina reage com o Peróxido de Hidrogênio reduzindo a intensidade da coloração final. Algumas drogas podem falsear os valores de triglicérides (ver em limitações do sistema). Para controle destas

interferências recomenda-se que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos e orientado quanto ao correto jejum antes da realização do exame.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Trinder, P.: Ann. Clin. Biochem. 6,24, 1969.
- Fossati P, e Principe L.: Clin. Chem. 28/10, 2077-2080, 1982.
- Megraw, Robert E. Dunn David e Biggs, Homer G.: Clin. Chem. 25/2, 273-278, 1979.
- Chernecky C.C., Krech. R.L., Berger B.J.: Laboratory Tests and Diagnostic Procedures, 932-933, 1993.
- Jacobs D.S., Kasten B.L., Demott W. R., Wolfson W.L.: Laboratory Test Handbook, 2ª ed., 346-348, 1990.
- Kaplan, L.A, Pesce A.J, Methods in Clinical Chemistry;1215-1227,1987.
- Henry, J.B., Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods; 19ª ed, 216-217, 1996.
- Cockayne, S; Clinical Chemistry: concepts and applications, 176-177,1993.
- Tibúrcio, H.M., Controle Interno da Qualidade Analítica, 1ªed. março/1995.
- III Diretrizes Brasileiras sobre dislipidemias - Sociedade Brasileira de Cardiologia.
- Doles: dados de arquivo.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - Código de Defesa do Consumidor.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- 1.O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido na instrução de uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda
CNPJ.: 01.085.513/0001-05
Rodovia BR 153 Km 1273, Lt.07 Chácara Retiro
Caixa Postal 1051
CEP.: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil
e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810079

Revisão: 16 (07/2009)

NBR ISO 9001

Sistema da Qualidade certificado desde 1999

