Triglicéridos.GPO-POD.Líquido	Ref.: TRI-014 2 x 125 mL
Determinación cuantitativa de triglicéridos	Ref.: TRI-014S 2 x 50 mL
Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico	Ref.: TRI-114 4 x 250 mL
Conservar a 2-8ºC	Ref.: TRI-014B 1 x 1.000 mL
	CAL: 1 x5 mL

TRIGLICÉRIDOS

CE

PRINCIPIO DEL METODO

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerol quinasa (GK) en presencia de ATP para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2) por glicerol fosfato oxidasa (GPO).

Al final, el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:

$$\text{Triglicéridos} + H_2O \xrightarrow{\text{LPL}} \text{Glicerol} + \text{Ácidos grasos libres}$$

$$\text{Glicerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glicerol quinasa}} \text{G3P} + \text{ADP}$$

$$\text{G3P} + O_2 \xrightarrow[\text{POD}]{\text{GPO}} \text{DAP} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-AF} + \text{p-Clorofenol} \longrightarrow \text{Quinona} + H_2O$$

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada[1,2,3].

SIGNIFICADO CLINICO

Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula.

Al igual que el colesterol, son transportados a las células del organismo por las lipoproteínas en la sangre.

Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos.

Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias, como ciertas disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas con su elevación[3,6,7].

El diagnostico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R (Nota 2)	GOOD pH 6.3	50 mmol/L
	p-Clorofenol	2 mmol/L
	Lipoprotein lipasa (LPL)	150000 U/L
	Glicerol quinasa (GK)	500 U/L
	Glicerol-3-oxidasa (GPO)	3500 U/L
	Peroxidasa (POD)	440 U/L
	4 – Aminophenazone (4-AF)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L
TRIGLYCERIDES CAL	Patrón primario acuoso de	200 mg/dL

PREPARACION

El reactivo y el patrón están listos para su uso.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8ºC, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 505 nm $\geq$ 0,26.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero y plasma [1]. Estabilidad de la muestra: 5 días a 2-8ºC.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:
   Longitud de onda..... 505 (490-550) nm
   Cubeta..... 1 cm paso de luz
   Temperatura..... 37ºC / 15-25ºC
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota1,3,4) (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37ºC o 10 min. a temperatura ambiente.
5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CALCULOS

$$\frac{(A)\ \text{Muestra} - (A)\text{Blanco}}{(A)\ \text{Patrón} - (A)\text{Blanco}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dL de triglicéridos en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,0113 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados. Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el material de calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

Hombres: 40 – 160 mg/dL
Mujeres: 35 – 135 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *limite de detección* de 0,000 mg/dL hasta el *limite de linealidad* de 1200 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mg/dL)	109	224	111	224
SD	0,64	1,01	3,74	7,91
CV (%)	0,58	0,45	3,38	3,52

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0013A.

Exactitud: Los reactivos BSM (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x). Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de correlación (r): 0,99810.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,9178x - 0,5426.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirrubina hasta 170 µmol/L y hemoglobin hasta 10 g/L[2].

Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación de los triglicéridos [4,5].

NOTAS

1. TRIGLYCERIDES CAL: Debido a la nauraleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
2. LCF(*Lipid Clearing Factor*) está integrado en el reactivo.
3. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
4. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
5. **BSM dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFIA

1. Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzimes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
2. Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
3. Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez,64-66 7ºplta. 28001 MADRID (SPAIN)

Triglycerides. GPO-POD. Liquid	Ref.:TRI-014	2 x 125 mL
Quantitative Determination of triglycerides	Ref.:TRI-014S	2 x 50 mL
Only for *in vitro* use in clinical laboratory	Ref.:TRI-114	4 x 250 mL
Store at 2-8ºC	Ref.: TRI-014B	1 x 1.000 mL
	CAL:	1 x 5 mL

TRIGLYCERIDES

CE

PRINCIPLE OF THE METHOD

Sample triglycerides incubated with lipoproteinlipase (LPL), liberate glycerol and free fatty acids. Glycerol is converted to glycerol-3-phosphate (G3P) and adenosine-5-diphosphate (ADP) by glycerol kinase and ATP. Glycerol-3-phosphate (G3P) is then converted by glycerol phosphate oxidase (GPO) to dihydroxyacetone phosphate (DAP) and hydrogen peroxide (H_2O_2). In the last reaction, hydrogen peroxide (H_2O_2) reacts with 4-aminophenazone (4-AP) and p-chlorophenol in presence of peroxidase (POD) to give a red colored dye:

$$\text{Triglycerides} + H_2O \xrightarrow{\text{LPL}} \text{Glycerol} + \text{free fatty acids}$$

$$\text{Glycerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glycerol kinase}} \text{G3P} + \text{ADP}$$

$$\text{G3P} + O_2 \xrightarrow{\text{GPO}} \text{DAP} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-AP} + \text{p-Chlorophenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinone} + H_2O$$

The intensity of the color formed is proportional to the triglycerides concentration in the sample[1,2,3].

CLINICAL SIGNIFICANCE

Triglycerides are fats that provide energy for the cell.
Like cholesterol, they are delivered to the body's cells by lipoproteins in the blood. A diet with a lot of saturated fats or carbohydrates will raise the triglyceride levels. The increases in serum triglycerides are relatively non-specific. For example liver dysfunction resulting from hepatitis, extra hepatic biliary obstruction or cirrhosis, diabetes mellitus is associated with the increase [3.6.7].
Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R (Note 2)	GOOD pH 6.3	50 mmol/L
	p-Chlorophenol	2 mmol/L
	Lipoprotein lipase (LPL)	150000 U/L
	Glycerolkinase (GK)	500 U/L
	Glycerol-3-oxidasa (GPO)	2500 U/L
	4 – Aminophenazone (4-AP)	0,1 mmol/L
	ATP	0,1 mmol/L
TRIGLYCERIDES CAL	Aqueous primary standard	

PREPARATION

Reagent and standard provided are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8ºC, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm ≥ 0,26.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 505 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or plasma[1]. Stability of the sample: 5 days at 2-8ºC .

PROCEDURE

1. Assay conditions:
   Wavelength: . . . . . 505 nm (490-550)
   Cuvette: . . . . . 1 cm light path
   Temperature . . . . . 37ºC / 15-25ºC
2. Adjust the instrument to zero with distilled water.
3. Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
R (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard(Note 1,3,4) (µL)	--	10	--
Sample (µL)	--	--	10

4. Mix and incubate for 5 min. at 37ºC or 10 min. at room temperature.
5. Read the absorbance (A) of the samples and Standard, against the Blank. The colour is stable for at least 30 minutes.

CALCULATIONS

$$\frac{(A)\ \text{Sample} - (A)\text{Blank}}{(A)\ \text{Standard} - (A)\text{Blank}}$$ x Standard conc. = mg/dL triglycerides in the sample

Conversion factor: mg/dL x 0.0113= mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures.
If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagent and calibration material.
Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

Men	40 – 160 mg/dL
Women	35 – 135 mg/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From *detection limit* of 0,000 mg/dL to *linearity limit* of 1200 mg/dL.
If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	109	224	111	224
SD	0,64	1,01	3,74	7,91
CV (%)	0,58	0,45	3,38	3,52

Sensitivity: 1 mg/dL = 0,0013 A.
Accuracy: Results obtained using BSM reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).
The results obtained using 50 samples were the following:
Correlation coefficient (r): 0,99810.
Regression equation: y= 0,9178x – 0,5426.
The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

No interferences were observed with bilirubin up to 170 µmol/L and hemoglobin up to 10 g/L[2].
A list of drugs and other interfering substances with cholesterol determination has been reported by Young et al [4, 5].

NOTES

1. TRIGLYCERIDES CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contamied easily.
2. LCF (Lipid Clearing Factor) is integrated in the reagent.
3. Calibration with the aqueous Standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
4. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
5. **BSM has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

1. Buccolo G et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzimes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.
2. Fossati P et al. Clin. Chem 1982; 28(10): 2077-2080.
3. Kaplan A et al. Tryglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

Bio-Science Medical S.L. C/ Velázquez, 64-66, 7ªplta, 28001 MADRID (SPAIN)