



TRIGLICÉRIDES ENZIMÁTICO

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Teste Enzimático Colorimétrico para a determinação de triglicérides. Reagente com FCL (Fator Clareante de Lípidos).

FINALIDADE:

Kit para a determinação quantitativa de triglicérides em soro e plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

A enzima lipoproteína lipase (LPL) no reagente hidrolisa os triglicérides na amostra, que levam a produção do glicerol livre. A enzima glicerol quinase (GK) no reagente catalisa a fosforilação do glicerol livre pelo ATP, levando a formação do glicerol-3-fosfato e ADP. O glicerol-3-fosfato, sob ação da glicerol-3-fosfato oxidase (G3P), em presença de oxigênio, produz peróxido de hidrogênio. A enzima peroxidase também presente no reagente, catalisa a reação de oxidação do 4-clorofenol pelo peróxido de hidrogênio formado em presença de 4-aminoantipirina, produzindo um composto rosa com absorção máxima em 505nm. A concentração desse composto (quinoneimina) e consequentemente a intensidade da cor são diretamente proporcionais a concentração de triglicérides na amostra.

Triglicérides $\xrightarrow{\text{LPL}}$ Glicerol + Ácidos Graxos;

Glicerol + ATP $\xrightarrow[\text{Mg}^{2+}]{\text{GK}}$ Glicerol-3-fosfato + ADP;

Glicerol-3-fosfato + O₂ $\xrightarrow{\text{G3P}}$ Dihidroxiacetone-fosfato + H₂O₂

2H₂O₂ + 4-Aminoantipirina + 4-Clorofenol $\xrightarrow{\text{PEO}}$ Quinoneimina + 4 H₂O

SIGNIFICADO CLÍNICO:

Os triglicérides provenientes da dieta são digeridos durante sua passagem pelo trato gastro-intestinal. As lipases e ácidos biliares fazem com que os triglicérides sejam hidrolisados, formando glicerol e ácidos graxos livres. Após a sua absorção, os ácidos graxos livres e o glicerol são combinados formando novamente os triglicérides que são combinados com colesterol e apolipoproteínas, formando quilomicrons, que são levados para a circulação. A elevação dos triglicérides plasmáticos é indicativo de distúrbios metabólicos. Sua dosagem, é parâmetro na avaliação de riscos cardíacos, diabetes, obesidade, uremias e outros.

Uma elevação do nível plasmático de triglicérides em pacientes com diabetes, está relacionada a elevação da mobilização das áreas de armazenamento de lipídeos, devido a redução de insulina, o que eleva o risco de ocorrência do depósito de lipídeos nas paredes vasculares, causando a aterosclerose.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2 e 8 °C

R1 - Enzimático: Tampão PIPES 50mmol/L (pH 7,2); Glicerolquinase > 1,0

KU/L; Peroxidase > 2,0 KU/L; LPL > 4 KU/L; Glicerol-3-fosfato oxidase > 3 KU/L; 4-clorofenol 2,7mmol/L; 4-aminoantipirina 0,3 mmol/L; ATP 2,0 mmol/L; azida sódica 0,09 % p/v.

R2 - Padrão: Azida sódica 0,09 % p/v, glicerol equivalente a concentração de triglicérides de 200 mg/dL.

ESTABILIDADE:

O Reagente Enzimático e o Padrão estão prontos para uso. Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo quando armazenados a temperatura de 2 a 8 °C, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso. Após aberto o frasco, o Reagente Enzimático é estável por 12 semanas quando armazenado entre 2 e 8 °C. Deve-se tomar o cuidado de proteger o reagente da exposição a luz direta.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37 °C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 2 e 8 °C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. Os reagentes possuem azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- O R1 – Reagente Enzimático não deve ser utilizado quando sua absorbância medida contra água em 505nm apresentar resultado superior a 0,300 e também quando apresentar turbidez ou sinais de contaminação;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostatizador na temperatura constante de 37 °C;
- Cronômetro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

• SORO e PLASMA (EDTA)

O soro deve ser separado até 2 horas após a coleta. Se armazenado sob refrigeração 2 a 8 °C, o Triglicérides é estável por até 72 horas. Se armazenado abaixo de -20 °C, o Triglicérides é estável por até 30 dias.

INTERFERÊNCIAS

Citrato, Fluoreto e Heparina podem produzir resultados alterados. Não devem ser utilizados soros ictericos. Hemoglobina \geq 3g/L, Bilirrubina \geq 10mg/dL e Ácido Ascórbico $>$ 0,3mmol/L podem causar resultados alterados.

INFLUÊNCIAS PRÉ-ANALÍTICAS

- A punção venosa deve ser realizada após 15 minutos do paciente assentado. Se esse procedimento não for realizado, o resultado pode apresentar até 10% de elevação.

- O torniquete deve ser aplicado por período inferior a 1 minuto ou pode ocorrer uma falsa elevação dos triglicérides.
- Pode ocorrer uma variabilidade biológica de até 20% em medições diferentes devido a ingestão de álcool, exercícios e peso corporal.
- Não praticar exercício físico até 24 horas antes do teste.
- Não ingerir álcool até 72 horas antes dos testes.
- Jejum inferior a 12 horas leva a uma elevação dos triglicérides, pois os quilomicrons ainda não foram metabolizados. Jejum superior a 14 horas leva a uma elevação na concentração de triglicérides devido a lipólise, que causa a liberação de ácidos graxos e glicerol no plasma.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações

- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao dos reagentes nos tubos;
- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Termostatar o reagente

Ajustar a temperatura do banho-maria ou termostatizador para 37 °C. A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste.

3. Leitura do teste

Comprimento de onda: 500nm, Hg 546nm;

Cubeta: 1cm;

Temperatura: 37 °C;

Medição: Zerar a absorbância contra branco. É necessário apenas um branco por bateria de testes.

4. Procedimento

Pipetar na cubeta	Branco	Amostra
Amostra ou Padrão	---	10µL
R1 - Enzimático	1000µL	1000µL

Homogeneizar e imediatamente incubar por 5 minutos a 37 °C. A absorbância deve ser lida dentro de 60 minutos contra o reagente branco.

5. Cálculos:

Triglicérides(mg/dL) = $\frac{\text{Absorbância da amostra} \times \text{Conc. Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$

Fator de Calibração (Fc) = $\frac{\text{Concentração do Padrão(mg/dL)}}{\text{Absorbância do Padrão}}$

Triglicérides(mg/dL) = Absorbância da Amostra x Fc

5.1 Exemplo com Padrão

Concentração do Padrão: 200 mg/dL

Absorbância da Amostra: 0,265

Absorbância do Padrão: 0,251

Triglicérides (mg/dL) = (0,265/0,251) x 200 = 211 mg/dL

5.2. Exemplo com Fator de Calibração

Fc = 200/0,251 = 796,81

Triglicérides(mg/dL) = 796,81 x 0,265 = 211 mg/dL

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação:

A linearidade do método é de até **1100 mg/dL**. Para amostras com concentrações mais elevadas, diluir com 1 + 2 com solução salina a 0,9% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado por 3.

2. Valores de referência

Lípides	Com jejum	Sem jejum	Referencial
Colesterol Total †	< 190	< 190	Desejável
HDL-C	> 40	> 40	Desejável
Triglicérides	< 150	> 175 ‡	Desejável
LDL-C	< 130	< 160	Baixo
	< 100	< 100	Intermediário
	< 70	< 70	Alto
	< 50	< 50	Muito Alto
Não HDL-C	< 160	< 160	Baixo
	< 130	< 130	Intermediário
	< 100	< 100	Alto
	< 80	< 80	Muito Alto

† Colesterol total > 310 mg/dL há probabilidade de hipercolesterolemia familiar; ‡ Quando os níveis de triglicérides estiverem acima de 440 mg/dL (sem jejum) o médico solicitante faz outra prescrição para a avaliação de triglicérides com jejum de 12 horas e deve ser considerado um novo exame de triglicérides pelo laboratório clínico.
Valores de referência e de alvo terapêutico de acordo com o risco cardiovascular estimado para adultos com mais de 20 anos.

Estes valores devem ser utilizados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

3. Sensibilidade

1,97 mg/dL

4. Comparação de métodos

O kit para a dosagem de Triglicérides foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes dentre essas, soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

5. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Triglicérides da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV %
SC1	30	64,7	0,692	1,07
SC2	30	212,4	2,956	1,39
SC3	30	1108,9	13,281	1,20

5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV %
SC1	10	63,8	0,7410	1,16
SC2	10	210,9	3,102	1,47
SC3	10	1106,1	14,427	1,30

6. Controle de qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Triglicérides da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	212	213,5	100,7
SC2	657	653,9	99,5
SC3	1098	1086	98,9

Todo soro controle com valores determinados para o Triglicérides, pelo método enzimático-colorimétrico, pode ser utilizado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/610-100	R1 – Enzimático	1 X 100 mL	100
	R2 – Padrão	1 x 3 mL	
100/610-250	R1 – Enzimático	1 X 250 mL	250
	R2 – Padrão	1 x 3 mL	
100/610-500	R1 – Enzimático	2 X 250 mL	500
	R2 – Padrão	1 x 3 mL	
100/610-1000	R1 – Enzimático	4 x 250 mL	1000
	R2 - Padrão	1 x 3 mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann. Clin. Biochem. v.6, p.24-27, 1969.
- 2- Bucolo, G.; David, H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes Clin. Chem. v.19, p.476-482, 1973.
- 3- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose. Arq. Bras. Cardiol. v.77, supl. III p.1-48, 2001.
- 4- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981.
- 5- Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose. Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2017 ;30 (VI): 466 – 468 Tabela 1.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

CNPJ: 11.308.834/0001-85

Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br
Departamento de Serviços Associados | (31)34663351;

dsa@vidabiotecnologia.com.br

Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D

Reg. M.S.: 80785070039

Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Número de catálogo
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote