

Súprava na stanovenie koncentrácie triglyceridov v sére..

Len pre diagnostické účely in vitro !

**PRINCÍP METÓDY**

Triglyceridy inkubované s lipoproteinlipázou (LPL), uvoľňujú glycerol a voľné mastné kyseliny. Glycerol je premenený na glycerol-3-phosphate (G3P) a adenosine-5-diphosphate (ADP) glycerol kinázou a ATP. Glycerol-3-phosphate (G3P) je potom premenený glycerol phosphate dehydrogenázou (GPO) na dihydroxyacetone phosphate (DAP) a peroxid vodíka (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). V poslednej reakcii, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reaguje s 4-aminofenazonom (4-AP) a p-chlorofenolom v prítomnosti peroxidázy (POD) a dáva červené farbivo.

Triglycerides + H<sub>2</sub>O  $\xrightarrow{LPL}$  Glycerol + voľné mastné kyseliny

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

G3P + O<sub>2</sub>  $\xrightarrow{GPO}$  DAP + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4-AP + p-Chlorofenol  $\xrightarrow{POD}$  Quinone + H<sub>2</sub>O

Intenzita vzniknutej farby je úmerná koncentrácii triglycerides vo vzorke.

**ZLOŽENIE REAGENCIÍ**

	GOOD pH 7.5	50 mmol/L
R 1 (Puffer)	p-Chlorofenol	2 mmol/L
	Lipoprotein lipase (LPL)	150000 mmol/L
	Glycerolkinase (GK)	500 U/L
	Glycerol-3-oxidase (GPO)	2500 U/L
R 2 (Enzýmy)	Peroxidase (POD)	440 U/L
	4-Aminofenazono (4-AP)	0.1 mmol/L
	ATP	0.1 mmol/L

Triglycerides Cal Triglycerides aqueous primary calibrator 200 mg/dL

**PRÍPRAVA A STABILITA ČINIDIEL**

Pracovné činidlo (WR): Rozpusťte (→) obsah jednej nádoby R 2 (Enzýmy) v jednej fľaši R 1 (Puffer). Uzavrite a jemne zamiešajte, aby sa rozpustil obsah. (WR) má trvanlivosť: 6 týždňov pri 2-8°C alebo 1 týždeň pri 15-25°C.

Zabráňte snežnému svetlu. Všetky zložky činidla majú trvanlivosť do dátumu spotreby na štítku, skladované pri 2-25°C, chránené pred svetlom a znečistením v priebehu ich používania. Nepoužívajte činidlá po uplynutí doby trvanlivosti.

**Triglycerides Cal:** Po otvorení má trvanlivosť do 1. mesiaca, uskladnený pevne uzatvorený, pri teplote 2-8°C, chránený pred svetlom a znečistením počas používania.

**Znaky poškodenia činidiel:**

- prítomnosť čiaščiek a zákal

- absorbanca Blanku (A) pri 505 nm  $\geq$  0.14

Všetky zložky činidla sú trvanlivé do konca uplynutia uvedeného mesiaca a roka. Skladujte tesne uzatvorené, pri teplote 2-8°C. Nepoužívajte činidlá po uplynutí doby trvanlivosti.

**VZORKA**

Sérum alebo plazma.

Trvanlivosť vzorky: 5 dní pri 2-8°C

**POTREBNÝ, ALE NEPOSKYTNUTÝ MATERIÁL**

- spektrofotometer alebo kolorimeter merací pri 505 nm.

- prispôbené kvety 1.0 cm svetelná dráha

**Základné vybavenie laboratória****POSTUP**

1. Skúšobné podmienky

- Vlnová dĺžka: ..... 505 nm.(490-550) nm

- Kvetka: ..... 1 cm svetelná dráha

- Teplota ..... 37°C / 15-25°C

2. Nastavte prístroj na nulu s Blankom alebo činidlom.

3. Pipetujte do kvety:

	Blank	Calibrator	Vzorka
R 1 (mL)	1.0	1.0	1.0
Calibrator (μL)	--	10	--
Vzorka (μL)	--	--	10

4. Zamiešajte a inkubujte 5 minút pri 37°C alebo 10 minút pri

izbovej teplote (15-25°C)

5. Sničajte absorbanciu (A) vzoriek a Calibrator, oproti Blanku

Farba vydrží najmenej 30 minút.

**VÝPOČTY**

Triglycerides (mg/dL) =  $\frac{(A) Vzorka}{(A) Standard} \times 200$  (Calibrator conc.)

Prepočítací súčiniteľ: mg/dL x 0.0113 = mmol/L

**KONTROLA KVALITY**

Kontrolné séra sú doporučené, aby monitorovali priebeh procedúry.

LABTROL Normal Ref. 30900 a LABTROL Pathological Ref. 30905.

Ak sa kontrolné hodnoty ocitnú mimo stanoveného rozsahu, skontrolujte prístroj, činidlá a kalibrátor, či nie sú chybné.

Kontrolné prvky séra sú doporučené pre internú kontrolu akosti. Každé laboratórium by si malo zriadiť svoju vlastnú schému Kontroly akosti a opravné akcie.

**REFERENČNÉ HODNOTY****Hodnotenie rizika:**

Menej ako 250 mg/dL	Nízke
250 – 500 mg/dL	Rozhranie
500 mg/dL a nad	Vysoké

(Tieto hodnoty sú pre orientačný účel.)

**Odporúča sa, aby si každé laboratórium zriadilo svoj referenčný rozsah.**

**KLINICKÝ VÝZNAM**

Triglycerides sú tuky, ktoré poskytujú energiu bunkám.

Ako cholesterol, sú dodávané do buniek tela lipoproteínmi v krvi.

Strava s množstvom nasýtených tukov alebo uhlohydrátov zvyšuje hladiny triglyceridov. Nárasty v sérum triglyceridov sú pomerne nespecifikované. Napríklad dysfunkcia pečene vyplývajúca z hepatitídy, pečeneového a žilového upchatia alebo cirhózy, cukrovka je spojená s nárastom.

**PREDVEDENIE ČINIDIEL**

- **Rozsah:**

Od 0.7 mg/dL do 1000 mg/dL.

Ak získané výsledky boli

väčšie ako hranica linearity, zriedte vzorku 1 / 2 s NaCl 9 g/L a

vy násobte výsledok 2.

- Presnosť:

	Intra-rozbor n = 20		Inter-rozbor n = 20	
Hodnota (mg/dL)	118	216	119	215
SD	0.67	0.94	2.17	2.91
CV %	0.60	0.43	1.83	1.36

- **Senzitivita:** 1 mg/dL = 0.0012 A

- **Správnosť:** Výsledky získané činidlami LABKIT (y) neukázali systematické rozdiely, pri porovnaní s inými komerčnými činidlami (x).

Výsledky získané použitím 50 vzoriek boli nasledujúce:

Korelačný koeficient (r): 0.996

Regresná rovnica: y = 1.00x – 0.0743

Výsledky prevádzkovej charakteristiky závisia na použitom analyzátoze.

**INTERFERENCIA**

- Neboli zistené žiadne interferencie bilirubínu do 170 μmol/L a hemoglobínu do 10 g/L

- Ostatné zložky môžu interferovať. Zoznam liečiv a iných rušivých látok je uvedený v Young al. et 3, 4.

**POZNÁMKY**

1. Kalibrácia s vodným štandardom môže zapríčiniť systematickú chybu v automatických procedúrach. V takýchto prípadoch sa odporúča použiť sérum Calibrator.
2. Používajte nové špičky na pipety.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Buccolo G et al Quantitative determination of serum glycerides by use of enzymes Clin Chem 1973 19 (5) 476 - 482
2. Fossati P et al Clin Chem 1982, 28 (10) 2077-2080
3. Kaplan A et al Triglycerides Clin Chem The 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