ТРИГЛИЦЕРИДЫ (triglycerides) 1001310, 1001311, 1001312, 1001313, 1001314

Ферментативный колориметрический тест (GPO-POD) для количественного определения концентрации триглицеридов в сыворотке и плазме.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код 1001310	5x10мл	Код 1001311	10x20мл	Код 1001312	10x50мл
Код 1001313	4x125мл	Код 1001314	4x250мл		

ПРИНЦИП

Триглицериды ферментативно гидролизуются на глицерин и свободные жирные кислоты под действием липопротеинлипазы. Концентрация глицерина определяется ферментативным методом, связанным с реакцией Триндера с образованием конечного продукта – кинонимина:

Триглицериды + H_2O $\xrightarrow{\text{липаза}}$ глицерин + жирные кислоты

Глицерин + АТФ $\xrightarrow{\text{глицеролкиназа}}$ глицерол-3-фосфат + АДФ

Глицерол-3-фосфат + O_2 $\xrightarrow{\text{ГПО}}$ дигидроксиацетонфосфат + H_2O_2

H_2O_2 + 4-аминофеназон + p-хлорофенол $\xrightarrow{\text{пероксидаза}}$ кинонимин + H_2O

Интенсивность формирующейся окраски, измеряемое при 505 нм, прямо пропорционально концентрации триглицеридов в пробе[1,2,3].

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Триглицериды – это жиры, обеспечивающие клетки энергией. Как и холестерин, они доставляются к клеткам тела с помощью липопротеинов крови. Диета с высоким содержанием насыщенных жиров или углеводов будет повышать уровень триглицеридов. Повышение в сыворотке триглицеридов относительно не специфично. Например, дисфункция печени вследствие гепатита, надпеченочной билиарной обструкции или цирроза, диабет ведет к повышению концентрации 3,6,7.

Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одного теста, он должен основываться на совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Реагент 1 (R1)	GOOD буфер pH 7,5	50 ммоль/л
буфер	p-хлорфенол	2 ммоль/л
Реагент 2 (R2)	Липопротеинлипаза (LPL)	150 000 Е/л
ферменты	Глицеролкиназа (GK)	500 Е/л
	глицерол-фосфат оксидаза (GPO)	2500 Е/л
	пероксидаза (POD)	440 Е/л
	4-аминофеназон (4-AP)	0,1 ммоль/л
	АТФ (ATP)	0,1 ммоль/л
Стандарт	Триглицериды, водный раствор	**2,28 ммоль/л** (или 200 мг/дл)

ПОДГОТОВКА

Рабочий реагент: разведите содержимое флакона Реагент 2 (R2) в одном флаконе буфера Реагент 1 (R1). Для упаковки 5x10мл (код 1001310) добавьте 10 мл буфера во флакон с лиофилизатом. Закройте крышку и тщательно перемешайте до полного растворения содержимого.

Рабочий реагент стабилен в течение 6 недель при 2-8°C или 1 неделю при комнатной температуре 15-25°C в посуде темного стекла. Избегайте прямого солнечного света.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора стабильны до указанной на упаковке даты (expiration date) при хранении в темном месте в плотно закрытых флаконах при 2-8°C и соблюдением мер по предупреждению контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока хранения.

Стандарт триглицеридов после открытия стабилен 1 месяц при 2-8°C при хранении в темном месте в плотно закрытых флаконах с предупреждением контаминации при использовании.

Признаки порчи реагентов:

- Присутствие частиц или мутности.
- Абсорбция бланка (A) при 505 нм выше 0,140.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

- Анализатор с фильтром 505 нм (490-550).
- Соответствующие кюветы с длиной оптического пути 1 см.
- Стандартное лабораторное оборудование.

ПРОБЫ

Сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА плазма без гемолиза[1]. Триглицериды в пробе стабильны 5 дней при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА

1. Условия теста:
   Длина волны: 505 (490-550)
   Кювета: оптический путь 1 см
   Температура: 15–25°C или 37°C.
   Метод: по конечной точке по стандарту (2,28 ммоль/л)
   Бланк: по реагенту.
2. Обнулить прибор по дистиллированной воде.
3. Закапать в кювету:

	Полумикрометод			Микрометод		
	бланк	стандарт	проба	бланк	стандарт	проба
Стандарт	–	10 мкл	–	–	5 мкл	–
Проба	–	–	10 мкл	–	–	5 мкл
Рабочий реагент	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл	500 мкл	500 мкл	500 мкл

4. Перемешать и инкубировать 5 минут при температуре 37°C и 10 минут при 15–25°C.
5. Измерить оптическую плотность (A) проб и стандарта относительно бланка по реагенту при длине 505 (490-550) нм. Окраска стабильна минимум 30 мин.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

$$C = C\ \text{стандарта}\ (\mathbf{2{,}28\ ммоль/л}) \times \frac{A\ \text{пробы}}{A\ \text{стандарта}}.$$

Коэффициент пересчета: мг/дл x 0,0113 = ммоль/л

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуемые контрольные сыворотки для мониторирования характеристик процедуры теста: SPINTROL H Normal и Pathologic (Кат.№ 1002120 и 1002210). Если значения контролей вне определенного диапазона, проверьте прибор, реагенты и калибратор на отсутствие проблем.
Каждая лаборатория должна разработать свою собственную систему контроля качества и корректирующие действия, если контроли не дают приемлемые результаты.

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Мужчины: **0,45–1,81 ммоль/л** (40–160 мг/дл) Женщины: **0,40–1,53 ммоль/л** (35–135 мг/дл)
Эти значения приведены для ориентационных целей; каждая лаборатория должна определить собственный референтный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: От *определяемого уровня* в 0,008 ммоль/л (0,7 мг/дл) до предела линейности 11,30 ммоль/л (1000 мг/дл). Если полученный результат превышает предел линейности, разведите пробу 1:2 с NaCl 9 г/л и умножьте результат на 2.
Воспроизводимость:

	Внутри серии (n=20)	
Среднее (мг/дл)	118	216
SD	0.67	0.94
CV (%)	0.60	0.43

Между сериями (n=20)	
119	215
2.17	2.91
1.83	1.36

Чувствительность: 1 мг/дл = 0.0012A
Правильность: Результаты, полученные с использованием реагентов SPINREACT (y) не показывают систематических различий при сравнении с другими коммерческими реагентами (x).
Результаты, полученные при обследовании 50 проб, были следующими:
Корреляционный коэффициент (r): 0.996. Уравнение регрессии: y= 1.00x + 0.0743.
Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференций с билирубином до 170 мкмоль/л и гемоглобином до 10 г/л [2]. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение триглицеридов, представлен Young et. al[4,5].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Калибровка с водным стандартом может быть причиной систематической ошибки в автоматических процедурах. В этих случаях рекомендуется использовать калибратор на основе сыворотки.
2. Используйте чистые одноразовые наконечники для пипеток при дозировании.
3. **У SPINREACT есть адаптации инструкций для многих автоматических анализаторов. Инструкции для них доступны по запросу**.

ЛИТЕРАТУРА

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.