



Інструкція

з використання набору реагентів
для визначення кількості тригліцеридів
в сироватці або плазмі крові

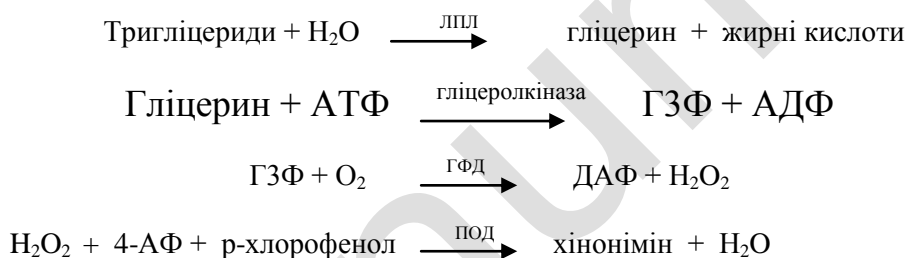
ТРИГЛЦЕРИДИ СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Принцип методу

При інкубації зразка тригліцеридів з ліпопротеїніпазою (ЛПЛ) відбувається реакція з утворенням вільного гліцерину та вільних жирних кислот. Гліцерин та АТФ, в присутності гліцеролкінази перетворюються в гліцерин-3-фосфат (ГЗФ) і аденозин-5-дифосфат (АДФ). Гліцерин-3-фосфат (ГЗФ) потім окислюється в присутності гліцеринфосфатдегідрогенази (ГФД, GPO) в дегідроксиацетонфосфат (ДАФ) і пероксид водню (H_2O_2). В останній реакції, перекис водню (H_2O_2) реагує з 4-амінофеназоном (4-АФ) і р-хлорфенолом в присутності пероксидази (ПОД, POD) з утворенням забарвленого продукту (червоного кольору):



Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації тригліцеридів в пробі.

Клінічне значення

Тригліцериди - жири, які забезпечують енергією клітини. Вони транспортуються з клітин епітелію ліпопротеїдами в кров. При дієті з великою кількістю насичених жирів і вуглеводів буде спостерігатися підвищення рівня тригліцеридів. Збільшення в сироватці крові тригліцеридів відносне. Наприклад, при дисфункції печінки, в результаті гепатитів, при закупорці жовчних протоків або цирозі печінки, при діабеті.

Клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. **Реагент 1.** GOOD рН 6.3 -50 ммоль/л; р-хлорофенол -2 ммоль/л; ЛПЛ -150000 Од/л; гліцеролкіназа - 500 Од/л; гліцерол-3-оксидаза - 3500 Од/л; 4-АФ - 0.1 ммоль/л; АТФ - 0.1 ммоль/л.
2. **Стандарт.** Розчин тригліцеридів – 2.25 ммоль/л.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 0.11 - 11 ммоль/л.
Відхилення від лінійності не перевищує 5%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 г/л та помножьте результат на два.
2. Чутливість не менш 0.06 ммоль/л.
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Тригліцериди стабільні 5 днів при 2-8°C.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 505 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Всі реагенти готові до використання.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

- довжина хвилі 505 нм (490-550 нм)
- кювета з товщиною оптичного шару 1 см
- температура 37°C / 15-25°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

| | Холостий зразок | Стандартний зразок | Дослідний зразок |
|---------------|-----------------|--------------------|------------------|
| Р1, мл | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Стандарт, мкл | - | 10 | - |
| Зразок, мкл | - | - | 10 |

Прим. Об'єми реагенту, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора

4. Перемішати, інкубувати протягом 5 хв. при 37°C, або 10 хвилин при 15-25°C.

5. Виміряти оптичну щільність (E) дослідного зразка і стандарту проти холостого зразка.

Забарвлення стабільне протягом 30 хвилин при кімнатній температурі.

Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}},$$

де: $C_{\text{дос}}$ - концентрація тригліцеридів в дослідному зразку, ммоль/л.

$E_{\text{дос}}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{ст}}$ - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.

$C_{\text{ст}}$ - вміст тригліцеридів в стандарті, 2.25 ммоль/л.

Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальний рівень тригліцеридів в сироватці або плазмі крові становить:

чоловіки 0.45 – 1.8 ммоль/л

жінки 0.4 – 1.5 ммоль/л

Перехід в додаткові одиниці мг/л x 0.00113 = ммоль/л

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СпЛ Контроль НОРМА», «СпЛ Контроль ПАТОЛОГІЯ» («Лабораторія Гранум», Україна); «КОНТРОЛЬ НОРМА Biog», «КОНТРОЛЬ ПАТОЛОГІЯ Biog» (Spinreact, S.A. Іспанія), «ERBA NORM, PATH» (Чехія), «Согмау Serum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та



ТРИГЛЦЕРИДИ СПЛ

GPO-POD. Колориметричний

можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.
- ОЩ холостого зразка при 505 нм ≥ 0.40 .

Примітки

1. Тригліцериди Стандарт. Працюйте обережно з цим продуктом, оскільки за своєю природою він легко може бути забруднитися.
2. Калібрування з водним стандартом може призвести до виникнення систематичної помилки в автоматизованих процедурах. У таких випадках, рекомендується використовувати сироватку Калібратор.
3. Використовуйте чисті на кінцівки для дозатора.