Glicerol libre FS*

Reactivo de diagnóstico para la determinación cuantitativa *In Vitro* de glicerol libre en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de Pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase		
1 5730 99 10 930	R	6 x	20 mL
1 5700 99 10 030		6 x	3 mL Estándar

Resumen [1,2]

La medición de los triglicéridos se usa en el control del estado de los lípidos para detectar riesgos de aterosclerosis y en la vigilancia de la reducción de los niveles.
Una falsificación de los valores triglicéridos es dado por el glicerol libre en el suero. El glicerol libre en condiciones normales aparece solamente en una concentración de 0,06 – 0,18 mmol/L en el suero. Por eso se sustrae una cantidad constante de 0,11 mmol/L de glicerol libre con ocasión del cálculo del glicerol total. El glicerol libre puede potenciarse aún hasta el décuplo o el veintuplo de la norma con una lipolisis aumentada (por ejemplo por el ayuno o por una terapia de heparina) y en pacientes con una carencia de glicerokinasa y por lo tanto tiene que ser mesurado por separado.

Método

Test colorimétrico enzimático utilizando glicerol–3–fosfato–oxidasa (GPO).

Principio

El indicador es la quinoneimina la cual se genera a partir de la 4–aminoantipirina y el 4–clorofenol por el peróxido de hidrógeno bajo la acción catalítica de la peroxidasa.

Glicerol + ATP $\xrightarrow{GK}$ Glicerol–3–fosfato + ADP

Glicerol–3–fosfato + 0_2 $\xrightarrow{GPO}$ Dihidroxiacetona fosfato + H_2O_2

2 H_2O_2 + Aminoantipirina + 4–clorofenol $\xrightarrow{POD}$ Quinoneimina + HCl + 4 H_2O

El aumento de la absorbancia a 546 nm resulta proporcional a la concentración de glicerol libre en la muestra.

Reactivo

Componentes y Concentraciones

Reactivo:		
Solución tampón de Good	pH 7,2	50 mmol/L
4-Clorofenol		4 mmol/L
ATP		2 mmol/L
Mg^{2+}		15 mmol/L
Glicerokinasa	(GK)	≥ 0,4 kU/L
Peroxidasa	(POD)	≥ 2 kU/L
4-Aminoantipirina		0,5 mmol/L
Glicerol-3-fosfato-oxidasa	(GPO)	≥ 1,5 kU/L
Estándar:	20,7 mg/dL (2,24 mmol/L)	

Instrucciones de Almacenamiento y Estabilidad del Reactivo

El reactivo se puede conservar a una temperatura de 2 a 8 °C y el estándar entre 2 y 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. No se deben congelar los reactivos. Mantener el reactivo protegido de la luz.

Advertencias y Precauciones

1. Los reactivos contienen azida de sodio (0,95 g/L) como preservo. ¡No ingerir! Evitarse el contacto con la piel o las mucosas.
2. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio.

Eliminación de Desechos

Por favor remítase a los requerimientos legales locales.

Preparación del Reactivo

El reactivo y el estándar están listos para usar.

Material requerido pero no suministrado

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo general de laboratorio

Tipo de Muestra [5]

Suero, plasma (heparina o EDTA)
Se tiene que efectuar la medida inmediatamente después de haber extraído el serum o el plasma. Si una medida no es posible inmediatamente, las muestras tienen que ser almacenadas en un frigorífico.
Estabilidad: 4 días entre +4 y +8°C
¡Desechar las muestras contaminadas!

Procedimiento del Ensayo

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos

Longitud de onda	500 nm, Hg 546 nm
Paso óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Método de medida	Respecto blanco de reactivo

	Blanco	**Muestra o Estándar**
Muestra o estándar	-	10 µL
Agua destilada	10 µL	-
Reactivo	1000 µL	1000 µL

Mezclar, incubar 5 min. a 37 °C. Leer la absorbancia respecto blanco de reactivo dentro de 15 min.

Cálculo

Con estándar o calibrador

$$\text{Glicerol libre [mg / dL]} = \frac{\Delta A \text{ Muestra}}{\Delta A \text{ Estd.}} \times \text{Conc. Estd. [mg / dL]}$$

Calculación del valor correcto de los triglicériods:

Triglicéridos [mmol/L] =
Triglicéridos mesurado [mmol/L] – Glicerol libre [mmol/L]

Triglycéridos [mg/dL] =
Triglicéridos mesurado [mg/dL] – Glicerol libre [mg/dL] x 10

Factor de conversión

Glicerol [mg/dL] x 0,1086 = Glicerol [mmol/L]

*Fluid Stable = líquido estable

Controles

Para la calibración interna debe medirse el control DiaSys TruLab N y P con cada serie de muestras.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características

Rango de Medida

El test está indicado para medir las concentraciones de glicerol dentro de un rango de medida de 0 - 250 mg/dL (0 – 27 mmol/L). Si se sobrepasan estos valores, se recomienda diluir las muestras con solución de NaCl (9 g/L) en una proporción 1+4 y multiplicar por 5 el resultado.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con la bilirrubina hasta 15 mg/dL, ni con ditaurobilirubina hasta 50 mg/dL, con el ácido ascórbico hasta 5 mg/dL, con RF hasta 500 IU/mL y con lipemia hasta 2000 mg/dL de triglicéridos. La interferencia con la hemoglobina ocurre empezando a concentraciones de hemoglobina de 50 mg/dL.

Límite de Detección

El límite más bajo de detección es 0,001 mg/dL (0,0001 mmol/L).

Precisión (a 37°C)

en la serie n = 20	valor medio [mg/dL]	DE [mg/dL]	CV [%]
Muestra 1	4,54	0,06	1,29
Muestra 2	12,1	0,09	0,78
Muestra 3	149	2,27	1,52

de un día a otro n = 20	valor medio [mg/dL]	DE [mg/dL]	CV [%]
Muestra 1	4,55	0,13	2,95
Muestra 2	12,0	0,23	1,95
Muestra 3	166	1,79	1,08

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys Glicerol libre FS (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados para 46 muestras: y = 0,993 x – 0,762 mg/dL; r= 0,999

Rango de Referencia [3]

Adultos: 0,29 – 1,72 mg/dL (0,03 – 0,19 mmol/L)
Niños 3 – 10 años: 0,56 – 2,14 mg/dL (0,06 – 0,23 mmol/L)

Cada laboratorio debería comprobar la adecuación de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Cole TG, Klotzsch SG, McNamara J. Measurement of triglyceride concentration. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press, 1997. p. 115-26.
2. Greiling H, Gressner AM: Textbook Clinical Chemistry and Pathobiochemistry: Schattauer, 1987. p. 238-240.
3. Tietz N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 1995. p. 294-295.
4. Metzmann E, Lein A, New one-component reagent for determination of glycerol in human serum. Poster, AACC 2006.
5. Stinshoff K, Weisshaar D, Staehler F, Hesse D et al. Relation between Concentrations of Free Glycerol and Triglycerides in Human Sera. Clin Chem 1977; 23: 1029-1032.

Fabricante

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania