

Para uso de Diagnóstico In Vitro.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Lípidos Totales se refiere a los materiales lípidos que son extraídos directamente del suero con solventes orgánicos. Su determinación puede ser usada para la evaluación de hiperlipidemia. Aún un aumento ligero en el nivel de Lípidos indicará la necesidad para más pruebas específicas de lípidos, Por ejemplo, colesterol, triglicéridos. El presente procedimiento está basado en un método modificado de sulfofosfovanilina como describe Frings et al.

FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

La prueba de sulfofosfovanilina tiene el siguiente mecanismo de reacción:

1. Los lípidos no saturados reaccionan con ácido sulfúrico concentrado para producir iones de carbono.
2. Vanilina reacciona con ácido fosfórico para producir esters fosfatos.
3. El ion de carbono y esters fosfatos forman un complejo en color rosa que absorbe al máximo de 530 nm.
4. La intensidad de color a 530 nm es directamente proporcional a la concentración total de lípido.

REACTIVOS

INGREDIENTES ACTIVOS: 20 mM de Vanilina de Ácido fosfórico. Estabilizador incluido

-Precauciones:

Causa irritación. Evite contacto con la piel, ojos y ropa. En caso de contacto, lave con abundante agua.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene a 15°- 30°C.

Estable hasta la fecha de caducidad si está bien cerrado. PROTEJASE DE LA LUZ.

-Deterioro: El reactivo debe ser una solución clara, sin olor. La turbidez o un color café indicarán deterioro.

EQUIPO REQUERIDO

Espectrofotómetro manual o automático capaz de leer a 530 nm.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

-Precauciones

1. Se recomienda el suero de ayuno después de 24 horas.
2. Las muestras fuertemente hemolizadas no deben usarse.

ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA

El Equipo de Lípidos Totales aparece estable en suero por 48 horas a 2°- 8° C. NO CONGELE.

ADITIVOS

No se necesitan aditivos o preservativos especiales.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Young et al han revisado los efectos de medicamento en Lípidos Totales.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Reactivo a color de Lípidos Totales y Calibrador Total de lípidos.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Ácido Sulfúrico concentrado de grado ACS.
2. Incubadora a 100° C.
3. Micropipetas de 1.0 ul.
4. Pipetas o dosificadores de 1.0 ml y 2.0 ml
5. Tubos de ensayo, tablero y cronómetro.

CONDICIONES DE LA REACCIÓN:

Longitud de onda	530 mM
Selección de filtro	510-560 NM
Tipo de reacción	Punto final
Temperatura de incubación	100°C
Tiempo de incubación	10 minutos
Volumen de la muestra	10 ul
Volumen H2SO4	1.0 ml
Volumen del reactivo a color	2.0 ml
Volumen total	3.0 ml
Normal bajo	400 mg/dl
Normal alto	800 mg/dl
Valor del calibrador	600 mg/dl

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO

Favor de referirse a las aplicaciones específicas de los instrumentos para aplicaciones.

PROCEDIMIENTO MANUAL

1. Etiquete los tubos BLANCO DE REACTIVO, CALIBRADOR, MUESTRA 1, etc.
2. Coloque 10 ul de la muestra en los tubos debidamente etiquetados. Use D – H2O como muestra para blanco del reactivo.
3. Añada 1.0 ml de ácido sulfúrico a cada tubo y mezcle bien. CUIDADO. Aplique el debido cuidado en el manejo del ácido.
4. Caliente a 100° C por 10 minutos.
5. Coloque en agua fría por 5 minutos.
6. Añada 2.0 ml. de reactivo de Lípidos Totales y mezcle bien. CUIDADO: Añada el reactivo a color lentamente y dirija el tubo hacia abajo. Al mezclar con ácido sulfúrico generará calor. Tenga precaución.
7. Coloque en agua fría por 2 minutos.
8. Ajuste el instrumento a cero a 530 nm usando el blanco de reactivo.
9. Lea y registre los valores de absorbancia para el calibrador, control y desconocidos.

NOTA: Para una lectura directa del instrumento, coloque la lectura a la concentración estándar y lea las concentraciones desconocidas directamente.

NOTA DEL PROCEDIMIENTO: La linealidad se extiende a 1250 mg/dl. Las muestras que exceden este valor deben ser diluidas con 0.9% de solución de cloruro de sodio y ensaye de nuevo. Multiplique el resultado de la prueba por el factor de dilución para obtener el resultado final.

ESTABILIDAD DEL PRODUCTO DE LA REACCIÓN FINAL

Las muestras de la prueba deben leerse dentro de 10 minutos después del desarrollo del color.

CALIBRACIÓN

No es necesario desarrollar una curva de calibración con este procedimiento ya que la reacción es lineal en la variación de 0-25 mg/dl, un calibrador y un blanco de reactivo deben determinarse con cada juego de desconocidos ensayados.

UN CALIBRADOR DE LÍPIDOS TOTALES, el cual se provee para este propósito. Las muestras que exceden 25mg/dl deben diluirse con D - H₂O y ensaye de nuevo multiplicando el resultado de la prueba por el factor de dilución para obtener el resultado final.

CONTROL DE CALIDAD

La confiabilidad de los resultados de la prueba debe ser monitoreada en la forma rutinaria usando materiales de control de calidad adecuados (Normal y Anormal) analizados en la misma manera que los desconocidos. La falla al alcanzar los valores ensayados del control de suero preparado fresco debe ser investigada antes de que los valores del paciente sean reportados.

CÁLCULO

La siguiente ecuación se usa para determinar las concentraciones desconocidas:

$$\text{Desconocido} = \frac{\text{Abs. desconocido}}{\text{Abs. calibrador}} * \text{Concentración cal.}$$

$$\text{Gama} - \text{GT} = \text{Factor} * \text{Abs. muestra}$$

LIMITACIONES

La reacción de sulfosfovanilín es específica para lípidos no saturados solamente (4) los ácidos de saturación de grasa no reaccionarán. Los detergentes y jabones pueden interferir con la reacción. Todo el material de vidrio debe ser enjuagado con agua destilada antes de usarse.

VALORES ESPERADOS

400 – 800 mg/dl

La variación representa el 95% de intervalos de confiabilidad para las muestras obtenidas de una población clínicamente normal. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores esperados.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO

-Linealidad: Este método es lineal a 1250 mg/dl

-Precisión: Los sueros control normal y anormal fueron ensayados 20 veces cada uno para establecer la precisión de un solo ensayo y 10 días para establecer la precisión de ensayo a ensayo.

UN SOLO ENSAYO

Nivel	Media (mg/dl)	Desviación estándar	C.V %
Normal	525	20	3.8%
Anormal	389	16	4.1%

DE ENSAYO A ENSAYO

Nivel	Media (mg/dl)	Desviación estándar	C.V %
Normal	532	24	4.5%
Anormal	387	21	5.4%

-Especificidad: Una comparación de este procedimiento de Lípidos Totales con otro método ampliamente conocido reveló un 98% de correlación con muestras en la variación normal y anormal.

-Sensibilidad: Este procedimiento tiene una sensibilidad de 1.3 mg/dl por 0.001 unidad de absorbancia.

REFERENCIAS

1. Tietz, N.W. (ed) Fundamentals of Clinical Chemistry W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1976.
2. Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. Harper and Row Publishers. New York, 1964.
3. Young, D.S., et al., Clin Chem. 18(10), 1972
4. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.