



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
 Тел.: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
 www.dacspectromed.com
 PT MD 11-15796482-001:2003

PhosphoLipid-DAC

ФОСФОЛИПИДЫ ФЕРМЕНТАТИВНО-ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ ХОЛИНОКСИДАЗА/ПЕРОКСИДАЗА

Только для диагностики «in vitro»
 Хранить при 2-8°C

Код 3062P50 50 ml

ПРИНЦИП МЕТОДА

Фосфолипиды, посредством реакций, описанных ниже, образует окрашенный комплекс.

Интенсивность окраски, измеренной при длине волны 505(±10) nm, пропорциональна концентрации фосфолипидов^{1,2}.
 Фосфолипиды + H₂O $\xrightarrow{\text{Фосфолипаза D}}$ холин + дидеканоил

Холин + 2O₂ + H₂O $\xrightarrow{\text{ХолинОксидаза}}$ бетанин + H₂O₂

2H₂O₂ + 4-Аминоантипирин + дихлорофенол $\xrightarrow{\text{Пероксидаза}}$ хинон + 4H₂O

СОСТАВ НАБОРА

Reagent A	50 ml	pH 7,55
Трис буфер		50 mmol/l
Дихлорофенол		2,1 mmol/l
Reagent B	5x10 ml	
Фосфолипаза D		400 U/l
Холиноксидаза		2200 U/l
Пероксидаза		3600 U/l
4-аминоантипирин		1 mmol/l
Phospholipids Standard	5 ml	
Стандарт фосфолипидов	300 mg/dl	

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Невыскранные реагенты при 2-8°C стабильны до срока, указанного на этикетке. Рабочий реагент при 2-8°C стабилен 3 недели, при 15-25°C – 7 дней.

Phospholipids Standard после вскрытия, при хранении плотно закупоренном, стабилен 1 месяц при 2-8°C.

Признаки непригодности Рабочего реагента: присутствие взвеси, мутность, абсорбция контроля ≥ 0,16 при 505(±10) nm (кюветы на 1 cm).

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка (плазма).
 Фосфолипиды при 2-8°C стабильны 3 суток.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Взрослые: 125-275 mg/dl.

Содержание фосфолипидов в сыворотке здоровых пациентов примерно равно содержанию холестерина. При изменении холестерина следует проверить и содержание фосфолипидов.

Приведенные референтные величины ориентировочны. Рекомендуется в каждой лаборатории установить собственные референтные величины.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или термостатирующий фотометр на 37°C с фильтром 505(±10) nm.

Дозаторы на 10 µl и 1,0 ml. Таймер.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro. Образцы должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Рабочий реагент: растворите при перемешивании содержимое флакона с Reagent B в 10 ml Reagent A.
 Phospholipids Standard готов к использованию.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод: конечная точка
 Длина волны: 505 (490-550) nm
 Температура: 37°C
 Бланк: по реагенту

1. Внесите в маркированные кюветы:

	Бланк	Стандарт	Образец
Рабочий реагент	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Phospholipids Standard	-	10 µl	-
Образец	-	-	10 µl

2. Содержимое кювет тщательно перемешайте и инкубируйте 5 минут при 37°C.

3. Учите Абсорбции Образцов (A_{Об}) и Standard (A_{Ст}) при длине волны 505 nm против Бланка.
 Окраска стабильна в течение 30 минут.

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Концентрация фосфолипидов (C_Ф) в образце вычисляется по следующей общей формуле: (A_{Об} / A_{Ст}) x C_{Ст} = C_Ф

При использовании Phospholipids Standard:

(A_{Об} / A_{Ст}) x 300 = C_Ф (mg/dl)

mg/dl x 0,0129 = mmol/l

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические контрольные сыворотки (Sera N-DAC Код 2055S5 и Sera P-DAC Код 2057S5).

Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел чувствительности: 2,54 mg/l.

Предел линейности: 600 mg/dl. При более высокой концентрации разведите образец физраствором (0,9 %) 1:2, повторите измерение, результат x 2.

Воспроизводимость в пределах периода:

Средняя концентрация	CV*	n*
121 mg/dl	1,74 %	20
221 mg/dl	0,91 %	20

Воспроизводимость от периода к периоду:

Средняя концентрация	CV*	n*
126 mg/dl	2,31 %	20
225 mg/dl	2,05 %	20

* CV – коэффициент вариации; n – количество определений.

Чувствительность: 1 mg/dl = 0,0014 A

Интерференция: Аскорбиновая кислота, глюкоза, билирубин, мочевая кислота и гемоглобин не влияют на результат определения. Другие лекарственные препараты и субстанции могут влиять на результат^{2,3,4}.

Результаты могут варьировать в зависимости от используемого оборудования или процедуры определения.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Фосфолипиды входят в структуру клеточных и субклеточных мембран, в значительном количестве находятся в тканях мозга, нервов, печени, сердца. Фосфолипиды, циркулирующие в крови, в числе других функций выполняют и роль стабилизаторов холестерина в плазме крови. Они препятствуют кристаллизации холестерина и оседанию на стенках кровеносных сосудов.

Определение содержания фосфолипидов является важным исследованием при диагностике заболеваний печени.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Калибровка водным стандартом может вызвать отклонение, связанное с растворителем, в особенности при работе на некоторых типах анализаторов. В таких случаях рекомендуется проводить калибровку с использованием стандарта на основе сыворотки (Multi St-DAC Код 2051M5).

2. Для предотвращения получения ошибочных результатов при определении фосфолипидов, рекомендуется использование одноразового лабораторного инвентаря.



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, or. Chişinău, str. Armenească 47, ap. 64
 Tel.: /+37322/ 574900, 574922/23; fax: /+37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
 www.dacspectromed.com
 PT MD 11-15796482-001:2003

PhosphoLipid-DAC

FOSFOLIPIDE FERMENTATIV-FOTOMETRIC HOLIOXIDAZA/PEROXIDAZA

Numai pentru diagnosticare «in vitro»
 A se păstra la 2-8°C

Cod 3062P50 50 ml

PRINCIPIUL METODEI

Fosfolipidele, prin intermediul reacțiilor descrise mai jos, formează un complex colorat. Intensitatea culorii, măsurată la 505(±10) nm, este proporțională concentrației fosfolipidelor^{1,2}.

Fosfolipide + H₂O $\xrightarrow{\text{Fosfolipaza D}}$ Holin + didecanoil

Holin + 2O₂ + H₂O $\xrightarrow{\text{Holioxidaza}}$ betanin + H₂O₂

2H₂O₂ + 4-Aminoantipirină + dihidrofenol $\xrightarrow{\text{Peroxidaza}}$ hinon + 4H₂O

COMPONENTA SETULUI

Reagent A	50 ml	pH 7,55
Tris tampon		50 mmol/l
Diclorofenol		2,1 mmol/l
Reagent B	5x10 ml	
Fosfolipaza D		400 U/l
Holioxidaza		2200 U/l
Peroxidaza		3600 U/l
4-aminoantipirina		1 mmol/l

Phospholipids Standard 5 ml

Standard de fosfolipide 300 mg/dl

PASTRAREA ŞI STABILITATEA REAGENŢILOR

Reagenții sunt stabili la 2-8°C pînă la data indicată pe etichetă.

Reagentul de lucru este stabil la 2-8°C 3 săptămîni, la 15-25°C – 7 zile.

Phospholipids Standard, după depunere, este stabil la 2-8°C

1 lună. Se va păstra într-un flacon bine închis.

Semne de deteriorare: prezența particulelor materiale, turbiditate, absorbția controlului ≥ 0,16 la 505(±10) nm (cuva 1 cm).

PROBE

Ser (plasmă).

Fosfolipidele sunt stabile la 2-8°C 3 zile.

VALORI DE REFERINŢĂ

Maturi: 125-275 mg/dl.

Concentrația fosfolipidelor în ser, la persoanele sănătoase, este aproximativ egală cu concentrația colesterolului. În cazul, în care sunt devieri de la valorile normale a colesterolului se recomandă de verificat și fosfolipidele.

Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în laboratorul dat.

ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Analizor, spectrofotometru sau fotometru cu filtrul 505(±10) nm termostatic la 37°C.

Dozatoare 10 µl și 1,0 ml. Taimer.

PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro

Probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analogic celor contagioase.

La utilizarea setului se vor respecta regulile de securitate prevăzute pentru lucrul cu substanțe toxice.

PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

Reagentul de lucru: conținutul flaconului cu Reagent B se va dizolva în 10 ml Reagent A. Se va amesteca continuu.

Phospholipids Standard este gata de utilizare.

MOD DE LUCRU

Metoda: punct final
 Lungimea de undă: 505 (490-550) nm
 Temperatura: 37°C
 Instalarea zero: după reagent

1. Se va pipeta în eprubetele marcate:

	Blanc	Standard	Proba
Reagent de lucru	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Phospholipids Standard	-	10 µl	-
Proba	-	-	10 µl

2. Se va amesteca și se va incuba 5 minute la 37°C.

3. Se va nota absorbția Probelor (A_{Pr}) și Standardului (A_{St}) la 505(±10) nm contra Blanc. Culoarea este stabilă 30 minute.

CALCUL

Concentrația fosfolipidelor (C_{Pr}) în probă se va calcula utilizând formula:

$$\frac{A_{Pr}}{A_{St}} \times C_{St} = C_{Pr}$$

La utilizarea Phospholipids Standard:

$$\frac{A_{Pr}}{A_{St}} \times 300 = C_{Pr} \text{ (mg/dl)}$$

mg/dl x 0,0129 = mmol/l

CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul mersului reacției și a procedurii de măsurare se recomandă de folosit seruri normale și patologice pentru control (Sera N-DAC cod 2055S5 și Sera P-DAC cod 2057S5).

Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

CARACTERISTICI METROLOGICE

Limita sensibilității: 2,54 mg/l.

Limita linearității: 600 mg/dl. Pentru valori mai ridicate proba se va dilua cu soluție fiziologică (0,9%) în raportul 1:2 și se va repeta măsurarea. Rezultatul se va înmulți la 2.

Reproductibilitatea în limitele perioadei:

Concentrația medie	CV*	n*
121 mg/dl	1,74 %	20
221 mg/dl	0,91 %	20

Reproductibilitatea de la perioadă la perioadă:

Concentrația medie	CV*	n*
126 mg/dl	2,31 %	20
225 mg/dl	2,05 %	20

* CV – coeficientul de variație; n – numărul de determinări.

Sensibilitatea: 1 mg/dl = 0,0014 A

Interferențe: Acidul ascorbic, glucoza, bilirubina, acidul uric și hemoglobina nu influențează rezultatul. Se va ține cont de posibila interferență medicamentoasă, cit și de interferența altor substanțe.

Rezultatele pot varia în dependență de echipamentul utilizat sau procedura de determinare.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Fosfolipidele se conțin în membranele celulare și subcelulare, țesutul creierului, nervi, ficat și inimă. Fosfolipidele, care circulă în sine, au funcția de stabilizator al colesterolului în plasma sanguină. Ele împiedică cristalizarea și precipitarea colesterolului pe pereții vaselor sanguine.

Nivelul fosfolipidelor în plasmă sunt indice foarte important în diagnosticarea bolilor ficatului.

NOTE

1. Utilizarea standardului pe bază de apă pentru calibrare poate provoca devieri, în special la utilizarea unor tipuri de analizoare. În acest caz pentru calibrare se recomandă de utilizat standard pe bază de ser (Multi B St-DAC Cod 2051M5).

2. În scopul evitării erorilor se recomandă de utilizat ustensile de laborator de unică folosință.



DAC-SpectroMed s.r.l.

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova
Tel.: +37322/574900,574922/23; fax: +37322/574920

Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-15796482-001:2003

PhosphoLipid-DAC

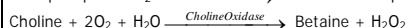
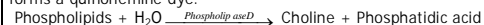
QUANTITATIVE DETERMINATION OF PHOSPHOLIPIDS
CHO-POD

For «in vitro» use only
Store at 2-8°C

Cod 3062P50 50 ml

PRINCIPLE

Phospholipids are hydrolysed by phospholipase D and the liberated choline is subsequently oxidized by choline oxidase (CHO) to betaine with the simultaneous production of hydrogen peroxide. In the presence of peroxidase (POD) the hydrogen peroxide couples oxidatively the 4- Aminophenazone (4-AP) and dichlorophenol to form a quinonemine dye:



The intensity of the color measured at 505(±10) nm is proportional to the phospholipids concentration in the sample.

CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent A	50 ml	pH 7,55
TRIS		50 mmol/l
Dichlorophenol		2,1 mmol/l
Reagent B	5x10 ml	
PhospholipaseD		400 U/l
Choline oxidase		2200 U/l
Peroxidase		3600 U/l
4- Aminophenazone		1 mmol/l
Phospholipids Standard	5 ml	
Phospholipids aqueous primary standard	300 mg/dl	

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C protect from light and contaminations prevented during their use.

Working Reagent is stable 3 weeks at 2-8°C, at 15-25°C – 7 days. Phospholipids Standard once open is stable to 1 month when stored tightly closed at 2-8°C protect from light and contaminations prevented during their use.

Indications of deterioration: Presence of particulate material, turbidity. Blank absorbance at 505 nm ≥0,16.

SAMPLES

Serum or plasma. Phospholipids are stable 3 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Adult: 125-275 mg/dl.

The serum phospholipids concentration in normal healthy individuals is in about the same concentration range as total cholesterol. Any change in cholesterol concentration results in a corresponding change in phospholipids in similar direction.

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer or photometer able to read at 505(±10)nm. Pipettes for 10 µl and 1,0 ml. Timer. Thermostat at 37°C.

PRECAUTION

The kit is only for in vitro use.

However, all the compounds based on human serum and patient serum specimens must be handled as potentially dangerous and treated as infectious.

REAGENT PREPARATION

Working Reagents: dissolve the contents of Reagent B in 10 ml Reagent A. Cap and mix gently to dissolve contents. Phospholipids Standard is provided ready to use.

PROCEDURE

Assay conditions

Method:	end point
Wavelength :	505 (490-550) nm
Temperature :	37°C
Blank:	against reagent

1. Pipette into labeled test tubes:

	Blank	Standard	Sample
Working Reagent, ml	1.0	1.0	1.0
Phospholipids Standard, µl	-	10	-
Sample, µl	-	-	10

2. Mix thoroughly and incubate for 5 min. at 37°C.

3. Measure the absorbance (A) of the Standard and the Sample at 505(±10) nm against the Blank.

The color is stable for at least 30 minutes.

CALCULATIONS

The phospholipids concentration in the sample is calculated using the following general formula:

$$\frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Standard}}} \times C_{\text{Standard}} = C_{\text{Sample}}$$

When utilization Phospholipids Standard:

$$(A_{\text{sample}} / A_{\text{st}}) \times 300 = C_{\text{sample}} \text{ (mg/dl)}$$
$$\text{mg/dl} \times 0,0129 = \text{mmol/l}$$

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Sera N and Sera P (code 2055S5, 2057S5) to verify the performance of the measurement procedure. Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Detection limit: 2,54 mg/l

Linearity limit: 600 mg/dl. If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample ½ with NaCl 9 g/l.

Repeatability (within run):

Mean Concentration	CV	n
121 mg/dl	1,74%	20
221 mg/dl	0,91 %	20

Reproducibility (run to run):

Mean Concentration	CV	n
126 mg/dl	2,31 %	20
225 mg/dl	2,05 %	20

* CV - coefficient of variation n – number of determinations

Sensitivity: 1 mg/dl = 0,0014 A.

Interferences: no influence of ascorbic acid, glucose, bilirubin, uric acid or hemoglobin was found within the range of physiological concentration. Other substances and drugs may interfere³.

These metrological characteristics have been obtained using an analyzer. Results may vary if a different instrument or manual procedures are used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Phospholipids are a complex lipid containing phosphorus. Their function as the principal components of cell membranes makes phospholipids essential for all vital processes. The determination of serum phospholipids is an important clinical test in diagnosis of liver diseases, especially obstructive jaundice.

NOTES

1. Calibration with the provided aqueous standard may cause a matrix related bias, especially in some analyzers. In these cases, it is recommended to calibrate using a serum based standard (Multi St-DAC, cod. 2051M5).
2. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.

BIBLIOGRAPHY

1. Naito K.N. Lipids. Kaplan A et al. Clin. Chem. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 918-919 and 570-572.
2. Takeyama M., et al. A new enzymatic method for determination of serum cholinecontaining phospholipids. Clin. Chem. (1977); Acta 79: 93-98.
3. Young DS, Effects of drugs on Clinical Lab. Tests 4th ed AACCC Press, 1995.
4. Young DS, Effects of disease on Clinical Lab. Tests 4th ed AACCC Press, 1995.
4. Burtis A. et al. Tiets Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACCC 1999.
6. Tietz N.W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACCC 1999.