

**Quantitative determination of total lipids
IVD**

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Unsaturated lipids react with sulphuric acid to form carbonium ions. In a second step the carbonium ions react with phosphovainilline to give a pink colour.

The intensity of the color formed is proportional to the total lipids concentration in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The lipids are organic compounds whose more important function is the one to act like fuel.

They have an extraordinary yield, favored by the possibility of storing itself in remarkable amounts like fatty weave. Other functions: they are constituent of biological membranes, form protective fatty structures of the internal organs; provide important compounds in the formation with diverse hormones.

Great part of the interest in the study of the increase of these compounds must to the connection between hyperlipemia and arteriosclerosis, diabetes and cardiac disease^{5,6}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R	Phosphovainilline Phosphoric acid	235 mmol/L 2 mmol/L
TOTAL LIPIDS CAL	Total Lipids aqueous primary standard 750 mg/dL	
Needed reagent but not provided: Sulphuric acid p.a. (H ₂ SO ₄)		

PRECAUTIONS

R: H314-Causes severe skin burns and eye damage.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

Reagent and calibrator are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

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

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 520 nm ≥ 0,32.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 520.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or plasma^{1,2}:

Stability of the sample: Total lipids are stable 24 h at room temperature (15-25°C) or 3 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 520 (490-550) nm
Cuvette: 1 cm light path
Temperature: 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a glass tubes:

	Standard	Sample
H ₂ SO ₄ (mL)	2,5	2,5
Standard ^(Note 1,2) (µL)	100	--
Sample (µL)	--	100

- Shake thoroughly using a mechanical stirrer.
- Incubate for 10 minutes in a boiling water bath (100°C).

- Cool in iced water and transfer into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Sample Acid digest (µL)	--	--	50
Standard Acid digest (µL)	--	50	--

- Shake thoroughly using a mechanical stirrer.
- Incubate for 15 minutes at 37°C.
- Read the absorbance (A) of the samples and standard, against the Blank. The colour is stable for at least 1 hour.

CALCULATIONS

$$\frac{(A)_{\text{Sample}} - (A)_{\text{Blank}}}{(A)_{\text{Standard}} - (A)_{\text{Blank}}} \times 750 \text{ (Standard conc.)} = \text{mg/dL total lipids in the sample}$$

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

Serum or plasma:

450 – 800 mg/dL

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From *detection limit* of 7,7 mg/dL to *linearity limit* of 1500 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	Mean (mg/dL)	SD	CV (%)	CV (%)
Mean (mg/dL)	555	919	553	919
SD	15,9	6,47	7,62	5,87
CV (%)	2,87	0,70	1,78	0,63

Sensitivity: 1 mg/dL = 0,00066 A.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0,984

Regression equation: y=0,967x + 24,08

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

A list of drugs and other interfering substances with total lipids determination has been reported by Young et. al^{3,4}.

NOTES

- TOTAL LIPIDS CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

- Kaplan A et al. Lipids. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 918-919.
- Cottet M.J. et al. Dosage des lipides sériques par la méthode sulfo-phospho-vainillique (1) de E Chabrol et R. Charonnat. Académie National de Médecine. 1965;149: 331-338.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: 1001270

 Cont.

R: 2x150 mL, CAL: 1x5 mL

Determinación cuantitativa de lípidos totales IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL METODO

Los lípidos insaturados reaccionan con el ácido sulfúrico en caliente con formación de iones carbonio.

En una segunda etapa, éstos, en presencia de fosfovainillina dan una coloración rosada.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de lípidos totales presente en la muestra ensayada^{1,2}.

SIGNIFICADO CLINICO

Los lípidos son compuestos orgánicos cuya función más importante es la de actuar como combustible.

Poseen un extraordinario rendimiento, favorecido por la posibilidad de almacenarse en notables cantidades como tejido adiposo. Otras funciones: son constituyentes de las membranas biológicas, forman estructuras adiposas protectoras de los órganos internos, y proveen compuestos importantes en la formación de diversas hormonas.

Gran parte del interés en el estudio del aumento de estos compuestos se debe a la conexión entre hiperlipemia y arteriosclerosis, diabetes y enfermedad cardíaca^{5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R	Fosfovainillina Ácido fosfórico	235 mmol/L 2 mmol/L
TOTAL LIPIDS CAL	Patrón primario acuoso de Lípidos Totales	750 mg/dL
Reactivo necesario no suministrado: Ácido sulfúrico p.a. (SO ₄ H ₂)		

PRECAUCIONES

R: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACION

Reactivo y calibrador listos para su uso.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 520 nm \geq 0,32.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 520 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma^{1,2}.

Estabilidad de la muestra: Los lípidos totales son estables 24 h a temperatura ambiente (15-25°C) o 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 520 (490-550) nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en tubos de ensayo:

	Patrón	Muestra
SO ₄ H ₂ (mL)	2,5	2,5
Patrón ^(Nota1,2) (µL)	100	--
Muestra (µL)	--	100

- Mezclar enérgicamente con ayuda de un agitador mecánico.

- Incubar 10 minutos en un baño de agua hirviendo (100°C).

- Enfriar en baño de agua fría y dosificar en cubetas:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Hidrolizado muestra (µL)	--	--	50
Hidrolizado Patrón (µL)	--	50	--

- Mezclar enérgicamente con ayuda de un agitador mecánico.

- Incubar 15 minutos a 37°C.

- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 1 hora.

CALCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 750 \text{ (Conc. Patrón.)} = \text{mg/dL de lípidos totales en la muestra}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

450 – 800 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 7,7 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 1500 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/dL)	555	919	553	919
SD	15,9	6,47	7,62	5,87
CV (%)	2,87	0,70	1,78	0,63

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,00066 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,984

Ecuación de la recta de regresión: $y=0,967x + 24,08$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de los lípidos totales^{3,4}.

NOTAS

- TOTAL LIPIDS CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFIA

- Kaplan A et al. Lipids. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 918-919.
- Cottet M.J. et al. Dosage des lipides sériques par la méthode sulfo-phosphovanillique (1) de E Chabrol et R. Charonnat. Académie National de Médecine. 1965; 149: 331-338.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACION

Ref: 1001270

Cont.

R: 2x150 mL, CAL: 1x5 mL

Lípidos totais

Sulfo-fosfo vainilina. Colorimétrico

Determinação quantitativa de lípidos totais IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os lípidos insaturados reagem com o ácido sulfúrico a quente com formação de iões carbónio.

Numa segunda etapa, estes, na presença de fosfovainilina dão uma coloração rosada.

A intensidade da coloração formada é proporcional à concentração de lípidos totais presente na amostra testada.^{1,2}

SIGNIFICADO CLÍNICO

Os lípidos são compostos orgânicos cuja função mais importante é a de actuar como combustível.

Possuem um extraordinário rendimento, favorecido pela possibilidade de armazenar-se em quantidades notáveis como tecido adiposo. Outras funções: são constituintes das membranas biológicas, formam estruturas adiposas protetoras dos órgãos internos, e fornecem componentes importantes na formação de diversas hormonas.

Grande parte do interesse do estudo do aumento destes compostos deve-se à conexão entre hiperlipémia e arteriosclerose, diabetes e patologia cardíaca^{5,6}.

O diagnóstico clínico deve ser feito tendo em consideração todos os dados clínicos e laboratoriais.

REAGENTES

R	Fosfovainilina Ácido fosfórico	235 mmol/L 2 mmol/L
TOTAL LIPIDOS CAL	Padrão primário aquoso de Lípidos Totais 750 mg/dL	
Reagente necessário não administrado: Ácido sulfúrico p.a. (SO ₄ H ₂)		

PRECAUÇÕES

R: H314-Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

PREPARAÇÃO

Reagente e calibrador prontos para utilização.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis, até ao prazo de validade indicado no rótulo, mantendo-se os frascos bem fechados a 2-8°C, protegidos da luz e evitando-se a contaminação. Não utilizar reagentes fora de prazo.

Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvância (A) do Branco a 520 nm \geq 0,32.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 520 nm.
- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

Soro ou plasma^{1,2}.

Estabilidade da amostra: os lípidos totais são estáveis 24 h à temperatura ambiente (15-25°C) ou 3 dias a 2-8°C.

PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:
Comprimento de onda: 520 (490-550) nm
Cuvete: 1 cm passo de luz
Temperatura: 37°C
- Ajustar o espectrofotómetro a zero frente a água destilada.
- Pipetar em tubos de ensaio:

	Padrão	Amostra
SO ₄ H ₂ (mL)	2,5	2,5
Padrão ^(Nota1,2) (µL)	100	--
Amostra (µL)	--	100

- Agitar enérgicamente com ajuda de um agitador mecânico.
- Incubar 10 minutos num banho de água fervente (100°C).
- Esfriar em banho de água fria e dosificar em cuvetes:

	Branco	Padrão	Amostra
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Hidrolisado Amostra (µL)	--	--	50
Hidrolisado Calibrador (µL)	--	50	--

- Misturar enérgicamente com ajuda de um agitador mecânico.
- Incubar 15 minutos a 37°C.
- Ler a absorvância (A) do padrão e da Amostra, frente ao Branco de reagente. A coloração é estável como mínimo 1 hora.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco}}{(A) \text{ Padrão} - (A) \text{ Branco}} \times 750 \text{ (Conc. Padrão.)} = \text{mg/dL de lípidos totais na amostra}$$

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras os soros controlo valorizados: SPINROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores se encontrarem fora do intervalo de tolerância, devem ser revistos o instrumento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispôr do seu próprio controlo de qualidade e estabelecer correções quando os controlos não cumprem com o estabelecido pelo intervalo de tolerância.

VALORES DE REFERENCIA¹

Soro ou plasma:

450 – 800 mg/dL

Estes valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medida: Desde o limite de detecção de 7,7 mg/dL até ao limite de linearidade de 1500 mg/dL.

Se a concentração da amostra for superior o limite de linearidade, diluir 1/2 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado final por 2.

Precisão:

Média (mg/dL)	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	555	919	553	919
DP	15,9	6,47	7,62	5,87
CV (%)	2,87	0,70	1,78	0,63

Sensibilidade analítica: 1 mg/dL = 0,00066 A.

Exactidão: Os reagentes SPINREACT (y) não mostram diferenças sistemáticas significativas quando se comparam com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r): 0,984

Equação da recta de regressão: $y=0,967x + 24,08$

As características do método podem variar segundo o equipamento utilizado

INTERFERENCIAS

Foram descritas varias drogas e outras substâncias que interferem na determinação dos lípidos totais^{3,4}.

NOTAS

- TOTAL LIPIDS CAL: Devido à natureza do produto, é aconselhável tratá-lo com muito cuidado já que se pode contaminar com facilidade.
- A calibração com o padrão aquoso pode provocar erros sistemáticos nos métodos automáticos. Neste caso, recomenda-se a utilização de calibradores séricos.
- Usar pontas de pipetas descartáveis limpas para a sua dispensação.
- SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores.**

BIBLIOGRAFIA

- Kaplan A et al. Lipids. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 918-919.
- Cottet M.J. et al. Dosage des lipides sériques par la méthode sulfo-phospho-vanillique (1) de E Chabrol et R. Charonnat. Académie National de Médecine. 1965; 149: 331-338.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

APRESENTAÇÕES

Ref: 1001270

Cont.

R: 2x150 mL, CAL: 1x5 mL