

**CHOLESTEROL
ХОЛЕСТЕРОЛ
(БЕЗ ФЕНОЛ)****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ТОТАЛЕН ХОЛЕСТЕРОЛ В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

C. Esterase

Cholesterol Esters → Cholesterol+ мастни киселини

C.Oxidase

Cholesterol +O₂ → Cholesten-3-one + H₂O₂

H.Peroxidase

2 H₂O₂ + 4-Aminoantipyrene + p-HBS → Quinoneimine + 2 H₂O

Абсорбцията при 520 nm на разтвора на получената червена боя е пропорционална на концентрацията на холестерол в пробата.

РЕАГЕНТИ

След разтваряне според указанията на опаковката реагентът съдържа:

1. Cholesterol Reagent

4-Aminoantipyrene	0.6 mM
Sodium Cholate	8.0mM
Cholesterol Esterase	>150U/L
Cholesterol Oxidase	>200U/L
Horseradish Peroxidase	>1500 U/L
p-Hydroxy benzene Sulfonate	20mM
буфер	125mM
pH	6.8

нереактивни стабилизатори и пълнители

2. Cholesterol Standard (течен): 200mg/dl = 5.18 mmol/l в алкохол.

Съхранявайте при 2-8°C и в плътно затворена опаковка.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реагентите са само за "ин витро" употреба. Не пипетирайте с уста, тъй като евентуалните последици са неизвестни. Трябва да се спазват обичайните предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти. Използвайте дестилирана или дейонизирана вода.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Съхранявайте реагентите при 2-8°C. Разтвореният реагент е стабилен 60 дни при 2-8°C и в келхибарена бутилка. Не използвайте реагента, ако изглежда мътен; ако не отговаря на изискванията за линейност или на стойностите на качествения контрол или ако в съда е проникнала влага и са се образували бучки.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Трябва да се използва пресен, нехемализиран серум. Холестеролът в серум е стабилен в продължение на 7 дни при 18-25 °C и шест месеца замразен и предпазен от изпаряване.

ИНТЕРФЕРИРАЩИ СУБСТАНЦИИ

Антикоагуланти като флуорид и оксалат могат да доведат до фалшиво ниски стойности. Тестът не се влияе от стойности на хемоглобина до 2 g/l или на билирубина до 171 μmol/l. Интерференцията на силно иктерични или силно хемализирани проби може да бъде коригирана чрез употребата на сляпа проба със серум или плазма.

ПРОЦЕДУРА ЗА МАНУАЛНА РАБОТА

1. Пригответе реагента според указанията на опаковката му.
2. Означете епруветките "Сляпа проба", "Контроли", "Пациенти" и т.н.
3. Пипетирайте 1.0 ml от реагента във всички епруветки и темперирайте при 37°C в продължение на поне 2 минути.
4. Добавете 0.01 ml (10μl) от пробата към съответните епруветки, разбъркайте и ги върнете при 37°C.
5. Инкубирайте всички епруветки при 37°C в продължение на 10 минути.
6. Нулирайте спектрофотометъра при 520 nm със сляпа проба. (дължина на вълната 500-550).
7. Отчетете и запишете абсорбцията на всички епруветки.

* ВМЕСТО СТАНДАРТА МОЖЕ ДА СЕ ИЗПОЛЗВА МНОГОЦЕЛЕВИ КАЛИБРАТОР НА ТЕКО ДАЙЪГНОСТИКС.

Забележка: Ако спектрофотометърът изисква крайно количество по-голямо от 1.0ml за точно отчитане, използвайте 0.025ml (25μl) от пробата към 3.0ml от реагента.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Реагентът е линеен до 12.95 mmol/l. Пробите със стойности над 12.95 mmol/l трябва да се разреждат с изотоничен физиологичен разтвор 1:1, да се тестват отново и резултатите да се умножат по 2.

Силно липемични серуми изискват серумна сляпа проба. Добавете 0.02ml (20μl) от пробата към 2.5 ml физиологичен разтвор, смесете и отчетете абсорбцията спрямо вода. Извадете тази стойност от абсорбцията на пациента, за да получите правилната стойност.

РЕЗУЛТАТИ

(A= абсорбция)

A (пациент) x Концентрация на стандарт = Концентрация

A (стандарт) (mmol/l) на пациент (mmol/l)

Пример:

A (пациент) = 0.40

A (стандарт) = 0.32

Концентрация на стандарт = 5.18 mmol/l

$$\frac{0.4}{0.32} \times 5.18 = 6.48 \text{ mmol/l}$$
ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой обхват от очаквани стойности.

Класификация на рискаТотален холестерол в кръвта (mmol/l)

Желано ниво	<5.18
Гранично ниво	5.18 – 6.19
Високо ниво	>6.20

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Линейност: 12.95 mmol/l
2. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с друг метод, неизползващ фенол даде коефициент на корелация 0.98 и уравнение на регресията $y = 0.95x + 10.3$.
3. Точност :

В серия

	Серум 1	Серум 2
Средна стойн.(mmol/l)	3.29	8.55
Станд. откл.	0.09	0.13
C.V.(%)	2.8	1.4

Между сериите

	Серум 1	Серум 2
Средна стойн.(mmol/l)	3.37	8.39
Станд. откл.	0.12	0.21
C.V.(%)	3.6	2.5

4. Специфичност: Холестеролната оксидаза не е напълно специфична за холестерола. Други аналози на холестерола също се окисляват. Тези аналози не се срещат в значими количества в серума.

RE:12/01

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838

Вносител: "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1