

CHOLESTEROL

Odczynnik do oznaczania stężenia cholesterolu całkowitego

Tylko do diagnostyki in vitro

Nr kat. **5017.1**

4 x 50 ml

Nr kat. **5017.2**

4 x 100 ml



ZASTOSOWANIE

Odczynnik służy do oznaczania stężenia cholesterolu całkowitego osoczu i surowicy krwi.

ZASADA METODY

estry cholesterolu + H₂O ^{CHE} → cholesterol + kwasy tłuszczowe

cholesterol + H₂O + O₂ ^{CHO} → cholest-4-en-3-on + H₂O₂

2H₂O₂ + 4-AA + fenol ^{POD} → chinonoimina + 4H₂O

Esteraza cholesterolu hydrolizuje estry cholesterolu do wolnego cholesterolu i kwasów tłuszczowych. W obecności oksydazy cholesterolu wolny cholesterol jest utleniany do cholest-4-en-3-onu i nadtlenu wodoru. Nadtlenek wodoru reaguje z fenolem i 4-aminoantypiryną tworząc barwny kompleks. Intensywność zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia cholesterolu.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Surowica lub osocze pobrane zgodnie ze standardowymi procedurami. Materiał należy możliwie szybko oddzielić od czerwonych krwinek. Jako antykoagulanty mogą być stosowane: heparyna, EDTA lub fluorek.

Próbki można przechowywać do 7 dni w temp. 2-8°C.

WARTOŚCI PRAWDŁOWE

do 200 mg/dl (5,2 mmol/l) – pożądane

200 – 239 mg/dl (5,2 – 6,21 mmol/l) – graniczne

> 240 mg/dl (> 6,24 mmol/l) – wysokie ryzyko

Podane zakresy zostały ustalone przez US National Cholesterol Education Program i należy je traktować jako orientacyjne. Zaleca się, aby każde laboratorium określiło własne zakresy wartości prawidłowych.

SKŁAD ODCZYNNIKA

Bufor MES pH 6,4	50 mmol/l
Esteraza cholesterolu (CHE)	> 0,4 kU/l
Oksydaza cholesterolu (CHO)	> 0,1 kU/l
Peroksydaza (POD)	> 1,5 kU/l
4-Aminoantypiryna (4-AA)	> 0,3 mmol/l
Fenol	> 4 mmol/l
Siarczan magnezu	> 25 mmol/l
Cholan sodu	> 3,5 mmol/l
Azydek sodu	< 13,9 mmol/l
Niereaktywne detergenty i stabilizatory	

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia.

PRZECHOWYWANIE

Przechowywać w temp. 2-8°C w oryginalnych, zamkniętych opakowaniach. Chronić przed kontaminacją i bezpośrednim działaniem światła. Nie zamrażać.

Po otwarciu odczynnik prawidłowo przechowywany i chroniony przed zanieczyszczeniem jest stabilny do daty ważności podanej na opakowaniu.

PARAMETRY UŻYTKOWE

Limit detekcji: 0,5 mg/dl (0,013 mmol/l)

Czułość: 1,25 mA x dl / mg (48,33 mA x l / mmol)

Liniiowość: 750 mg/dl (19,5 mmol/l). Dla wyższych stężeń próbkę należy rozcieńczyć 0,9 % roztworem NaCl w stosunku 1+1; wynik oznaczenia pomnożyć przez 2.

Powtarzalność (w serii oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (mg/dl)	146,26	246,82
średnia (mmol/l)	3,80	6,41
% CV	< 1,50 %	< 1,50 %

Odtwarzalność (między seriami oznaczeń):

poziom	I	II
n	18	18
średnia (mg/dl)	145,08	247,16
średnia (mmol/l)	3,77	6,43
% CV	< 3,00 %	< 2,50 %

Korelacja:

Badania korelacji wyników z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynników referencyjnych nie wykazały znaczących różnic. Dokładne wyniki badań są dostępne na życzenie.

Interferencje:

Bilirubina do 10 mg/dl, kwas askorbinowy do 5 mg/dl, lipemia do 1000 mg/dl (triglicerydy) nie wpływają na wyniki oznaczeń. Inne substancje i leki mogą interferować.

KONTROLA POPRAWNOŚCI DZIAŁANIA

Do kontroli jakości oznaczeń stosować surowice kontrolne z wartościami cholesterolu całkowitego zmierzonymi dla metody enzymatycznej z esterazą cholesterolu, oksydazą cholesterolu i peroksydazą lub dla innej, równoważnej metody. Nie stosować odczynnika, jeżeli jego absorbancja mierzona wobec wody przy długości fali 500 nm jest wyższa niż 0,075.

DODATKOWE MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE

- Fotometr lub analizator automatyczny umożliwiający pomiar absorbancji przy długości fali w zakresie 490 – 550 nm.
- Wzorzec cholesterolu lub kalibrator.
- Standardowe wyposażenie laboratorium diagnostycznego.

WYKONANIE OZNACZENIA

Do próbek reakcyjnych napipetować:

	Próba odczynnikowa (PO)	Wzorzec / próbka (PW / PB)
Odczynnik	1000 µl	1000 µl
Doprowadzić do temperatury oznaczania, następnie dodać:		
Wzorzec/próbka	---	10 µl

Wymieszać, inkubować 5 min w temp. 37°C lub 10 min. w temp. 25°C. Odczytać absorbancję próby wzorcowej i próby badanej wobec próby odczynnikowej przy dł. fali 490 – 550 nm. Zabarwienie jest stabilne przez przynajmniej 30 minut.

OBLICZENIA

$$\text{Stężenie cholesterolu} = \frac{A(PB)}{A(PW)} \times \text{stęż. wzorca}$$

INFORMACJE DODATKOWE

1. Odczynnik zawiera śladowe ilości fenolu i azotku sodu. Przy pracy z odczynnikiem stosować środki ostrożności typowe dla rutynowych prac laboratoryjnych.
2. Odpady utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami – przez termiczne przekształcanie lub odpowiednimi metodami obróbki fizyczno-chemicznej.
3. Aplikacje do analizatorów automatycznych dostarczamy na życzenie.
4. Wzorzec cholesterolu i multikalibrator do analizatorów automatycznych należy nabywać osobno.

REFERENCJE

1. Allain C. C., Poon L. S., Chan C. S., Richmond W., Fu P. C.: Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin. Chem. 20, 470-475 (1974).
2. Rautela G. S., Liedtke R. J.: Automated enzymatic measurement of total cholesterol in serum. Clin. Chem. 24, 108-114 (1978).
3. Siedel J., Hagele E. O., Ziegenhorn J., Wahlefeld A. W.: Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. Clin. Chem. 29, 1075-1080 (1983).
4. Young D. S.: Effects of drugs on clinical laboratory tests, AACC Press, 4th ed. (1995).
5. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Educational Program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. NIH Publication No 01-3290 (2001).