



Cholesterol

(Colorimetric enzymatic method)

REF: CH300

- نمونه سرم / پلاسما (Lithium heparin)
- پایداری آنالیت در سرم/پلاسما (Lithium heparin):
دما: دمای محیط 7 روز
دما: 20- درجه سانتیگراد 3 ماه

هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی کلسترول موجود در سرم و پلاسما به روش Colorimetric enzymatic method استفاده می شود.

تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R1
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترل های نرمال و پاتوژن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر اتو آنالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

اهمیت بالینی

اندازه گیری کلسترول به منظور تشخیص و درمان اختلالات مربوط به کلسترول اضافی در خون و اختلالات متابولیسم لیپوپروتئین و چربی انجام می شود.

اساس اندازه گیری

کلسترول آزاد و کلسترول آزاد شده از استرهای آن پس از هیدرولیز آنزیمی به صورت آنزیمی اکسید می شوند (CHE). کلسترول آزاد توسط کلسترول اکسیداز اکسید شده به cholest-4-en-3-one و هیدروژن پراکسید تبدیل می شود. ترکیب رنگی quinoneimine از واکنش هیدروژن پراکسید با 4-aminophenazone و فنول در حضور پراکسیداز تشکیل می شود. شدت رنگ با میزان کلسترول موجود در نمونه متناسب است.

روش انجام آزمایش

پارامترهای دستگاهی

505 nm	طول موج
37°C	دما
1 cm	طول مسیر عبور نور
Endpoint	نحوه خوانش

نسبت نمونه / استاندارد / بلانک : معرف

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
1000µL	1000µL	1000µL	
-	-	10µL	آب مقطر
10µL	-	-	نمونه
-	10µL	-	استاندارد

مقادیر بالا مخلوط شده و پس از 5 دقیقه انکوبه کردن در دمای 37°C جذب نمونه به جذب بلانک (AS) و جذب کالیبراتور به جذب بلانک (AC) اندازه گیری شود.

*تمامی پارامترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی های هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.

محاسبات

$$\text{Cholesterol (mg/dl)} = \frac{AS}{AC} * \text{conc. of calibrator}$$

Conversion Factor:

$$\text{Cholesterol [mg/dl]} \times 0.02586 = \text{Cholesterol [mmol/l]}$$

مقادیر مرجع

serum-plasma	≤ 190 mg/dl
--------------	-------------

معرف ها

R1	Good buffer	50 mmol/l
	Cholesterol esterase	1000 U/l
	Cholesterol Oxidase	500U/l
	Phenol	100 mmol/l
	Peroxidase	5000U/l
	4-aminophenazone	100 mmol/l

*معرف ها مایع و آماده مصرف می باشند.

پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای 2-8°C نگهداری شود.
- در صورت نگهداری در دمای یخچال کیتها تا زمان انقضای قید شده بر روی جعبه قابل استفاده خواهند بود.
- از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.
- از فریز کردن معرف ها خودداری شود.

نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- معرف ها حاوی سدیم آزید هستند. از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و غشاء مخاطی پرهیز کنید. در صورت تماس با پوست حتما با مقدار زیاد آب شسته شود. از پیپت کردن محلول با دهان خودداری شود.
- موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها (MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.

جمع آوری و آماده سازی نمونه



Cholesterol

(Colorimetric enzymatic method)

REF: CH300

منابع

1. Young D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, DC 5th ed. 2000.
2. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
3. Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology, Edited by Friedrich Lottspeich and Joachim Engels, Wiley-VCH 2018

هر آزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج Cholesterol باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

پارامترهای کارایی کیت

1- دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

20-600 mg/dl

نمونه های با غلظت بالاتر با محلول 0.9% NaCl به نسبت 5:1 رقیق شوند.

2- حساسیت (Sensitivity)

حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 20 mg/dl

3- دقت (Precision)

- اینترا اسی - تکرار پذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و 20 بار اندازه گیری شد.

Intra-Assay Precision (within-run) n=20			
CV%	SD	میانگین (mg/dl)	نمونه
2.11	3.16	150.10	Level 1
1.46	2.86	195.32	Level 2

- اینترا اسی - دقت

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز 20 بار اندازه گیری شد.

Inter-Assay Precision (between-run) n=20/day			
CV%	SD	میانگین (mg/dl)	نمونه
1.16	1.74	150.28	Level 1
1.12	2.21	197.48	Level 2

4- صحت (مقایسه روش ها)

مقایسه ای بین کیت شرکت بهان با یکی از کیت های معتبر بازار بر روی 60 نمونه نتایج زیر بدست آمد.

ضریب همبستگی (R): 0.98

$$y = 0.9883x + 4.313$$

5- بررسی تداخلات احتمالی

آنالیت های زیر در مقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی دهند.

Bilirubin	≤ 6mg/dl
Ascorbic Acid	≤ 4mg/dl
Hemoglobin	≤ 300mg/dl

کنترل کیفیت

هر بار که کیت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.