

HOLESTEROL

Ref: HOL-200; HOL-500; HOL-600

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije holesterola u serumu ili plazmi.

METODA

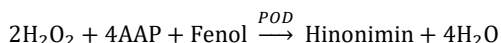
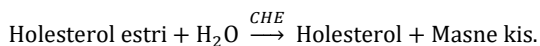
CHOD-PAP spektrofotometrijski metod.

KLINIČKI ZNAČAJ

Koncentracije holesterola su bitne za dijagnozu i klasifikaciju hiperlipoproteinemija. Stres, godine, pol, hormonski balans i trudnoća utiču na fiziološki nivo holesterola, a nizak nivo holesterola ukazuje na disfunkciju jetre.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Predložena metoda se zasniva na hidrolizi holesterol estara (na C-3) do holesterola i masnih kiselina, pod dejstvom holesterolesteraze (CHE). Slobodan holesterol i holesterol oslobođen iz estara oksidišu se kiseonikom, pod uticajem holesteroloksidaze (CHOD), do holest-4-en-3-on uz izdavanje vodonika peroksida. Oksidativnom kondenzacijom vodonika donora – fenola sa reagensom za kuplovanje - 4-amino antipirinom (4-AA) i vodonika peroksidom, u prisustvu peroksidaze (POD), nastaje hromogen hinonimin sa maksimumom apsorpcije na 500 nm¹⁻³:



REAGENSI

Holesterol, Ref:HOL-200 se sastoji od 1 reagensa i 1 standarda:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Standard Holesterola	1 x 3 mL

Holesterol, Ref:HOL-500 se sastoji od 1 reagensa i 1 standarda:

Reagens 1 (Rg.1)	5 x 100 mL
Standard Holesterola	1 x 3 mL

Holesterol, Ref:HOL-600 se sastoji od 1 reagensa i 1 standarda:

Reagens 1 (Rg.1)	6 x 100 mL
Standard Holesterola	1 x 3 mL

SASTAV REAGENASA

Rg.1 Pipes pufer pH 6,80	50 mmol/L
Fenol	10 mmol/L
POD	>1 KU/L
4-AA	0,75 mmol/L
CHE	> 400 U/L
CHOD	> 400 U/L

Standard holesterola

Koncentracija je navedena na bočici

UPOZORENJE

- Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
- Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
- Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Originalno pakovan reagens stabilan je do isteka roka označenog na bočici, ako se čuva na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti serum; plazmu pripremljenu sa heparinom ili EDTA.

Stabilnost : 7 dana na 20-25 °C
7 dana na 4-8 °C
3 meseca na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	505/660 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 100
Reakcija :	End Point
Inicijalna A reagensa :	< 0.2 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz	Ast	Asp
Uzorak	10 µL	-	-
Standard	-	10 µL	-
Destilovanu vodu	-	-	10 µL
Rg.1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 5 minuta na 37°C ili 10 minuta na temperaturi od 20°- 30°C, a zatim izmeriti apsorpcije uzorka (Auz) i standarda (Asp) prema slepoj probi reagensa (Asp).Merenja apsorpcija izvršiti u toku 30 minuta na λ = 505 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti standard holesterola ili multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$c = \frac{A_{uz}}{A_{st}} \cdot c_{ST} \text{ (mmol/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Smatra se da su sledeće koncentracije serumskog holesterola značajne u odnosu na rizik nastanka koronarnih oboljenja:

Normalne	< 5.7 mmol/L
Granične vrednosti	5.7-6.6 mmol/L
Visoke vrednosti	> 6.6 mmol/L

Bilo bi poželjno da svaka laboratorija utvrdi sopstvene referentne vrednosti.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 0,10 do 16,0 mmol/L holesterola.

Ukoliko je koncentracija holesterola veća od 16,0 mmol/L, uzorke razblažiti fiziološkim rastvorom 1+2 i dobijeni rezultat pomnožiti sa 3.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,02 mmol/L

LoQ = 0,10 mmol/L

Osetljivost određivanja (S)

S=A/c= 0,066 ΔAbs po mmol/L

Interferencije

Na određivanje holesterola ne utiču sledeće supstance:

bilirubin	c < 200 μmol/L (11,7 mg/dL)
hemoglobin	c < 5,0 g/L
trigliceridi	c < 11,3 mmol/L (1000 mg/dL).

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 2,46	Sd = 0,06	KV = 2,41 %
Uzorak 2	Xsr = 5,19	Sd = 0,08	KV = 1,62 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 2,49	Sd = 0,07	KV = 2,86 %
Uzorak 2	Xsr = 5,19	Sd = 0,11	KV = 2,14 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza^{4,5} između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme (45 uzoraka). Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

Linearna regresija

$$y = 1,002 x - 0,0221$$

$$r = 0,9994$$

LITERATURA

1. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B.Sounders Company, Philadelphia, 1986.
2. M.J.Stankov, D.Stankov, S.Paunović, J.Serb.Chem. Soc. 65 (7)473-479, 2000.
3. M.J.Stankov, D.Stankov, P.Djurdjević, Arh.farm.1-2 (11-18) 2001.
4. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I.J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709- 720, 1983.
5. W. Bablok H. Passing, R. Bender, B. Schneider. A general regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem and Clin Biochem 26 (11), 783 - 790, 1988.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____