ХОЛЕСТЕРИН (cholesterol) 1001090, 1001091, 1001092, 1001093

Ферментативно-колориметрический метод (CHOD-PAP) для количественного определения общего холестерина в сыворотке.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1001090 10x50 мл	Код: 1001091 10x20мл
Код: 1001092 4x125 мл	Код: 1001093 4x250мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Холестерин и его эфиры выделяются из липопротеинов под действием детергентов. Холестеринэстераза гидролизует эфиры холестерина, образующийся холестерин под действием холестериноксидазы окисляется. В процессе реакции образуется индикатор кинонимин из перекиси водорода и 4-аминофеназона в присутствии фенола и пероксидазы.

$$\text{Эфир холестерина} + H_2O \xrightarrow{\text{холестеринэстераза}} \text{холестерин} + \text{жирные кислоты}$$

$$\text{Холестерин} + O_2 \xrightarrow{\text{холестериноксидаза (CHOD)}} \text{4-холестенон} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{4-аминофеназон} + \text{фенол} \xrightarrow{\text{пероксидаза}} \text{кинонимин} + 4\,H_2O$$

Интенсивность образующейся окраски прямо пропорциональна концентрации холестерина[1,2].

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Холестерин – это жироподобное вещество, которое находится во всех клетках тела. Печень производит весь холестерин организма для формирования клеточных мембран и создания определенных гормонов. Определение холестерина в сыворотке – это один из важных инструментов в диагностике и классификации дислипопротеинемий. Высокий уровень холестерина – это один из главных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний[5,6]. Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одного теста, он должен основываться на совокупности клинических и других лабораторных данных.

РЕАГЕНТЫ

Реагент 1 (R1) буфер	PIPES-буфер pH 6,9	90 ммоль/л
	Фенол	26 ммоль/л
Реагент 2 (R2) ферменты	Пероксидаза (POD)	1250 Е/л
	холестеринэстераза (CHE)	300 Е/л
	холестериноксидаза (CHOD)	300 Е/л
	4-аминофеназон (4-AP)	0,4 ммоль/л
Стандарт	холестерин	200 мг/дл или **5,17 ммоль/л**

ПОДГОТОВКА

Рабочий реагент: разведите содержимое флакона Реагент 2 (R2) в одном флаконе буфера Реагент 1 (R1). Закройте крышку и тщательно перемешайте до полного растворения содержимого.

Рабочий реагент стабилен в течение 4 месяцев при 2-8°C или 40 дней при 15-25°C в посуде темного стекла. Избегайте прямого солнечного света.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора стабильны до указанной на упаковке даты (expiration date) при хранении в темном месте в плотно закрытых флаконах при 2-8°C и соблюдением мер по предупреждению контаминации при использовании. После разведения реагенты стабильны в течение 4 месяцев при 2-8°C или 40 дней при комнатной температуре в посуде темного стекла.

Не используйте реагенты после окончания срока хранения.

Стандарт холестерина после открытия стабилен 1 месяц при 2-8°C при хранении в темном месте в плотно закрытых флаконах с предупреждением контаминации при использовании.

Признаки порчи реагентов:

- присутствие частиц или мутности.
- Абсорбция бланка (A) при 505 нм выше 0,100.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

- Анализатор с фильтром 505 нм (500-550).
- Соответствующие кюветы с длиной оптического пути 1 см.
- Стандартное лабораторное оборудование.

ПРОБЫ

Сыворотка и гепаринизированная плазма без гемолиза[1,2]. Холестерин в сыворотке стабилен до 7 дней при 4°C и несколько месяцев при –20°C. Следует избегать повторных заморозок, оттаиваний пробы.

ПРОЦЕДУРА

1. Условия теста:
   Длина волны: 505 (500-550) нм
   Кювета: оптический путь 1 см

Температура: 15–25°C или 37°C.
Метод: по конечной точке по стандарту (5,17 ммоль/л)
Холостая проба: по реагенту. Нужна только одна холостая проба (бланк) на серию измерений.

2. Обнулить прибор по дистиллированной воде.
3. Закапать в кювету:

	Полумикрометод			Микрометод		
	бланк	стандарт	проба	бланк	стандарт	проба
Стандарт	--	10 мкл	--	--	5 мкл	--
Проба	--	--	10 мкл	--	--	5 мкл
Рабочий реагент	1000 мкл	1000 мкл	1000 мкл	500 мкл	500 мкл	500 мкл

4. Перемешать и инкубировать 5 минут при температуре 37°C и 10 минут при 15–25°C.
5. Измерить оптическую плотность (A) проб и стандарта относительно бланка по реагенту при 505 (500-550) нм. Окраска стабильна минимум 60 мин.

ВЫЧИСЛЕНИЕ

$$C = C_{стандарта} \times \frac{A_{пробы}}{A_{стандарта}}, \quad C_{стандарта} = 200 \text{ мг/дл или } \mathbf{5{,}17\ ммоль/л}$$

Коэффициент пересчета: мг/дл x 0,0258 = ммоль/л

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуемые контрольные сыворотки для мониторирования характеристик процедуры теста: SPINTROL H Normal и Pathologic (Кат.№ 1002120 и 1002210). Если значения контролей вне определенного диапазона, проверьте прибор, реагенты и калибратор на отсутствие проблем.
Каждая лаборатория должна разработать свою собственную систему контроля качества и корректирующие действия, если контроли не дают приемлемые результаты.

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Уровни для определения риска [5,6]:

	Общий холестерин	
Рекомендуемый уровень	< 200 мг/дл	**< 5,16 ммоль/л**
Пограничный уровень	200-239 мг/дл	**5,16- 6,17 ммоль/л**
Повышенный уровень	> 240 мг/дл	**> 6,19 ммоль/л**

Эти значения приведены для ориентационных целей; каждая лаборатория должна определить собственный референтный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Диапазон измерения: От *определяемого уровня* в 0,015 ммоль/л (0,6 мг/дл) до предела линейности 15,48 ммоль/л (600 мг/дл). Если полученный результат превышает предел линейности, разведите пробу 1:2 с NaCl 9 г/л и умножьте результат на 2.

Воспроизводимость:

	Внутри серии (n=20)		Между сериями (n=20)	
Среднее (мг/дл)	90.1	305	90.4	301
SD	0.64	3.30	1.12	2.30
CV	0.71	1.08	1.24	0.76

Чувствительность: 1 мг/дл = 0.002A

Правильность: Результаты, полученные с использованием реагентов SPINREACT (y), не показывают систематических различий при сравнении с другими коммерческими реагентами (x).
Результаты, полученные при обследовании 50 проб, были следующими:
Корреляционный коэффициент (r): 0.995. Уравнение регрессии: y= 1.004x – 0.931.
Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференций с гемоглобином до 5 г/л и билирубином до 10 мг/дл[1,2]. Список лекарств и других веществ, влияющих на определение холестерина ЛПВП, представлен Young et.al[3,4].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Калибровка с водным стандартом может быть причиной систематической ошибки в автоматических процедурах. В этих случаях рекомендуется использовать калибратор на основе сыворотки.
2. Используйте чистые одноразовые наконечники для дозирующих пипеток.
3. **У SPINREACT есть адаптации инструкций для многих автоматических анализаторов. Инструкции для них доступны по запросу**.

ЛИТЕРАТУРА

1. Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
2. Meiattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12): 2161-2165.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.