

آزمایش تشخیص کمی کلسترول در سرم یا پلاسما با روش فتومتری

حجم محلولها ۵ ویال ۱۰۰ میلی لیتری معرف

مقدمه:

کلسترول جزء اصلی ساختمان غشاهای سلولی و پیش سازی برای هورمونهای استروئیدی اسیدهای صفراوی بوده و در سلولها سنتز گردیده و از طریق مواد غذایی نیز جذب بدن میشود. کلسترول عمده ترین چربی همراه با بیماری عروقی آترواسکلروتیک است. با وجود این کلسترول برای تولید استروئیدها- هورمونهای جنسی- اسیدهای صفراوی و غشاهای مخاطی ضروری است. قسمت عمده کلسترول که مصرف میشود از غذاهای با منشا حیوانی تامین میشوند. کبد کلسترول را به شکل آژادش متابولیزه میکند و کلسترول به وسیله لیپوپروتئینها در جریان خون منتقل میشود. به علت وجود نوسانات قابل ملاحظه نتایج باید یا تکرار آزمایش تائید شوند. چون برای سنتز کلسترول عملکرد طبیعی کبد ضروری است سطوح پائین کلسترول سرم نشان دهنده بیماریهای شدید کبدی است. از طرفی چون مهمترین منبع کلسترول رژیم غذایی است سوء تغذیه هم سبب کاهش سطح کلسترول میشود. کلسترول در پلاسما توسط لیپوپروتئینها که مجموعه ای از لیپیدها و آپولیپو پروتئین ها هستند حمل میشود. لیپوپروتئینها به چهار دسته تقسیم میشوند. لیپوپروتئینها با چگالی پایین (LDL) ، با چگالی بسیار پایین (VLDL) با چگالی بالا (HDL) و شیلومیکرونها.

LDL نقش انتقال کلسترول به داخل نسوج و HDL عمل برداشت کلسترول از نسوج را بعهده دارد. در مطالعات انجام شده رابطه نزدیکی میان LDL بالا در سرم افراد و بیماری کرونر قلبی و سایر انواع آترواسکلروز مشاهده شده است. حتی در مواردی که مقدار کلسترول نرمال نیز بالا بودن LDL نشانه بالا بودن خطر ابتلا به بیماریهای فوق میباشد.

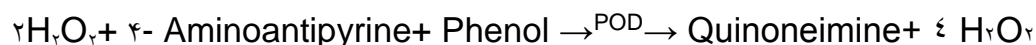
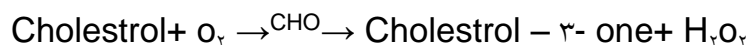
HDL بالا بر خلاف LDL عمل حفاظت و پیشگیری را از طریق برداشت کلسترول از نسوج را بعهده داشته و بالا بودن HDL باعث کاهش خطر ابتلا به بیماریهای کرونر قلبی و عروقی می شود. در حالیکه پایین بودن سطح HDL حتی در صورت نرمال بودن کلسترول باعث افزایش خطر ابتلا به بیماریهای فوق میباشد. مطالعات کلینیکی در سالهای اخیر نشان داده است که رژیمهای مناسب غذایی، تغییر الگوهای رفتاری (از جمله ترک سیگار، ورزش و دوری از استرس) و همچنین داروهای پایین آورنده سطح کلسترول و LDL میتوانند خطر ابتلا به بیماریهای قلبی و عروقی را بشدت کاهش دهند.

روش :

آنزیمی کالیمتری (CHOD-PAP) برای اندازه گیری تک نقطه ایی با روش فتومتری

اساس آزمایش:

در این آزمایش اکسیژن آزاد شده از کلسترول در مجاورت آنزیم کلسترول اکسیداز با ۴-آمینوآنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده که بصورت فتومترى قابل اندازه گیری میباشد با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد.



CHE= Cholesterol esterase, CHO= Cholesterol oxidase, POD= Peroxidase oxidase

معرفها:

محتویات و مقادیر

توجه: مقادیر زیر برحسب محلول آماده شده برای کار می باشد.

(معرف)

Goods buffer	PH ۶.۷	۵۰ mmol/l
Phenol		۵ mmol/l
۴-Aminoantipyrine		۰.۳ mmol/l
Cholesterol esterase		>۲۰۰ U/l
Cholesterol oxidase		>۱۰۰ U/l
Peroxidase		>۳ KU/l

شرایط نگهداری و پایداری محلولها

محلولها باید در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شوند و تا تاریخ مندرج بر روی ویالها قابل مصرف میباشد.

توجه: از فریز نمودن و قراردادن محلولها در مجاورت نور خوداری شود.

هشدارها

جهت پایداری نمودن محلولها از سدیم آزید استفاده شده است. لذا از تماس محلولها با پوست دست، دهان، چشم ها خودداری و یاد صورت تماس بلافاصله با آب فراوان شستشو شود.

بطور کلی کلیه موارد ایمنی معمول در آزمایشگاه در هنگام کار با محلولها رعایت گردد.

آماده سازی محلولها

محلول معروف بصورت آماده مصرف میباشد.

لوازم و مواد مورد نیاز

تجهیزات معمول آزمایشگاه پزشکی

سرم فیزیولوژی (محلول NaCl با غلظت ۹ گرم در لیتر)

کالیبراتور و کنترلها

جهت کالیبراسیون باید استاندارد کلسترول یا کالیبراتور TruCal U

و جهت کنترل TruLab P و Tru lab N از شرکت پارس آزمون بطور جداگانه تهیه شود.

نمونه ها :

سرم، پلاسما همراه با EDTA یا هپارین

پایداری کلسترول در نمونه دردمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد یا دردمای ۴ تا ۸ درجه سانتیگراد ۷ روز و درمنهای ۲۰ درجه ۳ ماه است.

از آلوده شدن نمونه ها جلوگیری شود.

روش انجام آزمایش :

دستور کار دستگاهی بطور جداگانه قابل در قابل دریافت میباشد.

طول موج : ۵۴۶ نانومتر (۵۰۰ تا ۵۴۶ نانومتر)

قطر کووت : یک سانتیمتر

دما : ۲۰ تا ۲۵ درجه یا ۳۷ درجه سانتیگراد

اندازه گیری : فتومتر با بلانک روی صفر تنظیم شود

لوله آزمایش استاندارد	لوله آزمایش نمونه	لوله آزمایش بلانک	
-	۱۰ میکرولیتر	-	نمونه
۱۰ میکرولیتر	-	-	استاندارد
-	-	۱۰ میکرولیتر	آب مقطر
۱۰۰۰ میکرولیتر	۱۰۰۰ میکرولیتر	۱۰۰۰ میکرولیتر	معرف
پس از مخلوط نمودن ۲۰ دقیقه در دمای محیط (۲۰ تا ۲۵ درجه) ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه نموده و حداکثر طی ۶۰ دقیقه جذب نوری استاندارد نمونه ها را در برابر بلانک اندازه گیری نمائید.			

محاسبات:

بر اساس غلظت استاندارد یا کالیبراتور

$$\text{Cholesterol (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ STD}} \times \text{Conc. Std/Cal} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right)$$

$$\text{CHOL. (mg/dl)} \times 0.2586 = \text{CHOL. (mmol/l)}$$

ویژگی ها و کارایی کیت:

محدوده اندازه گیری

این کیت جهت اندازه گیری کلسترول در محدوده ۵ تا ۵۰۰ میلی گرم در دسی لیتر طراحی شده و در مواردی که مقدار کلسترول بیش از ۵۰۰ میلی گرم در دسی لیتر باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۴ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۵ ضرب شود.

عوامل مداخله گر

اسیدآسکوربیک تا غلظت ۵ میلی گرم در دسی لیتر، بیلی روبین تا غلظت ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر، هموگلوبین تا غلظت ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر و تری گلیسرید تا غلظت ۲۰۰۰ میلی گرم در دسی لیتر باعث تداخل در آزمایش نمیشوند .

حساسیت

حداقل مقدار کلسترل قابل اندازه گیری ۵ میلی گرم در دسی لیتر می باشد.

دامنه مرجع:

Mmo/l	Mg/dl	
کمتر از ۵/۲	کمتر از ۲۰۰	طبیعی
۵/۲-۶/۲	۲۰۰-۴۰۰	پیش آگهی
بیش از ۶/۲	بیشتر از ۲۴۰	غیر طبیعی