MEDICHEM
MIDDLE EAST
Clinical Chemistry Reagents
Liquid Stable Reagents

الإجراء اليدوي

الكوليسترول Cholesterol

طريقة أنزيمية لونية

كاشف سائل أحادي

Cat. No. 12841 **For 100 tests**	R	2 x	50	ml
Cat. No. 12842 **For 300 tests**	R	6 x	50	ml

مبدأ الاختبار:

$$\text{Cholesterol esters} + 3H_2O \xrightarrow{chol.esterase} \text{Cholesterol} + 3\text{R-COOH}$$

$$\text{Cholesterol} + O_2 \xrightarrow{chol.oxidase} \text{4-cholestenone} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4 aminophenazone} + \text{Phenol} \xrightarrow{peroxidase} 4H_2O + \text{dye}$$

dye = 4-(p-benzoquinone-monoimino)-phenazone

يتحلمه إستر الكوليسترول في المصل بوجود خميرة الكوليسترول إستيراز إلى الكوليسترول و الحموض الدسمة الحرة. وبوجود الأوكسجين و خميرة الكوليسترول أوكسيداز يتحول الكوليسترول الناتج إلى الكوليستينون و الماء الأوكسجيني, بتكاثف هذا العامل المؤكسد مع كلٍ من الفينول و 4-AAP و بوجود البيروكسيداز ينتج صبغة وردية اللون و التي تقاس عند طول موجة 505 نانومتر. كثافة اللون الناتج تتناسب مع تركيز الكوليسترول الموجود في العينة.

تركيب الكاشف :

Reagent R		
PIPES = (Piperazine-1.4-bis (2-ethane-sulfonic acid)	8.6	mmol/L
Magnesium chloride	1.72	mmol/L
Phenol	5.3	mmol/L
4-AAP = 4-Aminophenazone	0.29	mmol/L
POD (Peroxidase)	600	U/L
Cholesterol esterase	500	U/L
Cholesterol oxidase	500	U/L
Detergent, stabilizer		
Standard: Concentration: As indicated on the bottle		

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

كاشف R: محلول سائل أحادي جاهز للعمل.
الكاشف ثابت خلال فترة الصلاحية المثبتة على اللصاقة عند التخزين في الدرجة2– 8 مْ. ثباتية العبوة بعد الفتح 2 شهر في الدرجة2– 8 مْ.
ملاحظة: ربما يتلون الكاشف بالزهري و هذا طبيعي, لا تستخدم الكاشف إذا كانت امتصاصية المحلول ضد الماء المقطر أكثر من 0.115 .

جمع العينة و حفظها:

1 - مصل أو بلازما جمع على مانع تخثر هيبارين أو EDTA, دون أي انحلال.
2 - الكوليسترول في المصل و البلازما ثابت لمدة:7 أيام في الدرجة 2 – 8 مْ. و 6 أشهر في الدرجة – 20 مْ.عندما تحفظ بعيداً عن التبخر.

المعايرة:

مصل معياري عام MediCal U Cat .No 15011
معياري الكوليسترول Cholesterol STD. Cat. No.16071

ضبط الجودة:

مصل شاهد طبيعي Meditrol N Cat .No 15171
مصل شاهد مرضي Meditrol P Cat .No 15181

الإجراء:

طول الموجة (فوتومتر)	Hg 546nm (500 – 560 nm)
طول الموجة (سبكتروفوتومتر)	505 nm
حجرة القياس	المسار الضوئي 1 cm
درجة الحرارة	37 °C / 20 – 25 °C
القياس	مقابل ناصع الكاشف
التفاعل	نقطة نهاية المعايرة

التحليل:

	الناصع	المعياري	العينة
ماء مقطر	10 µl	--	--
المعياري	--	10 µl	--
العينة	--	--	10 µl
محلول العمل	1000 µl	1000 µl	1000 µl

امزج بشكل جيد و احضن لمدة خمس دقائق في الدرجة 37 مْ أو عشر دقائق في الدرجة 20 – 25 مْ. أقرأ الامتصاصية الضوئية (A) مقابل ناصع الكاشف. يمكن إجراء القياس خلال نصف ساعة إضافية.

الحساب:

$$\text{تركيز الكوليسترول (mg/dl)} = \frac{A_{\text{العينة}}}{A_{\text{العياري}}} \times \text{تركيز المعياري (mg/dl)}$$

معامل التحويل بين الواحدات:

mmol/L ⟵ X 38.7 ⟶ mg/dl
mmol/L ⟵ 0.0259 X ⟶ mg/dl

الخطية:

حتى: 800 mg/dl (20.7 mmol/L)
يجب أن تمدد العينة ذات النتيجة أعلى من 800 mg/dl بمحلول كلور الصوديوم 0.9%(محلول فيزيولوجي) بنسبة (1+4) و بإعادة التحليل نضرب النتيجة بـ 5.

التداخلات:

1 - الانحلال: لم يظهر الخضاب أي تداخل بتركيز حتى الـ 500 mg/dl .
2 - أسكوربيك أسيد: لم يظهر أي تداخل بتركيز حتى الـ 100 mg/dl .
3 - البيليروبين المرتبط: لم يظهر أي تداخل بتركيز حتى الـ 20 mg/dl .
4 - البيليروبين الحر: لم يظهر أي تداخل بتركيز حتى الـ 20 mg/dl.
5 - انظر في كتاب Young *et. al.* من اجل جداول إضافية لتداخل المواد.

التحذيرات:

يحتوي الكاشف على أزيد الصوديوم كمادة حافظة. تجنب استنشاق المحلول و التماس المباشر مع الجلد, و من المحتمل أن يرتبط مع أملاح النحاس أو الرصاص ليشكل أزيدات المعادن المتفجرة, لذلك بعد طرح الكاشف المستخدم اغسل بكمية كبيرة من الماء لمنع ارتباط الأزيد.

In vitro diagnostics

First edition 2010

المجال الطبيعي:

الكوليسترول الكلي	أقل من 4 أسبوع	50 – 170	mg/dl
	ما بين 2 – 12 شهر	60 – 190	mg/dl
	أكبر من سنة	110 - 230	mg/dl
	البالغون	< 200	mg/dl
الكوليسترول عالي الكثافة	البالغون	> 35	mg/dl
الكوليسترول منخفض الكثافة	البالغون	< 155	mg/dl

المراجع:

1. Trinder, C. Clin. Chem. Clin. Biochem. 8 (1970) 658.
2. Weibhaar, D. Grossau, E. and All., Med. Welt 26 (1975)387-390.
3. Kubler, W., Symp. der Deutschen Gesellschaft für Lab. Med. Mainz (1973).
4. Study group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of colronary heart disease: A policy statment of the Eurpoean Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987; 8:77.
5. Young, DS., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACC Press, Washington, D.C.