



Bayer Paul Group
Vaccine, Pharma & Diagnostics

HDL-Cholesterol Precipitating method (Cat No.: BP-322)

اهمیت کلینیکی

لیپوپروتئین‌ها از جنس پروتئین هستند که عمدتاً کار آنها حمل و نقل چربی‌ها در گردش خون می‌باشد. بسته به دانسیته، آنها را به گروه‌های کیلومیکرون، VLDL با دانسیته خیلی پایین، LDL با دانسیته پایین و HDL با دانسیته بالا تقسیم می‌کنند. کیلومیکرون‌ها و VLDL معمولاً ماموریت جابجایی تری‌گلیسرید را دارند، LDL انتقال کلسترول به بافت‌های پریفرال را انجام می‌دهند که در جریان انتقال امکان رسوب آن در عروق وجود دارد که منجر به آترواسکلروز و بیماری‌های قلب و عروق می‌شود. HDL در انتقال کلسترول اضافی از بافت‌ها به کبد نقش دارد بنابراین نقش محافظ و چربی‌خوب را بازی می‌کند. اندازه‌گیری تری‌گلیسرید، کلسترول توتال، HDL و LDL اطلاعات مفیدی در سلامت قلب و عروق به ما می‌دهد.

اساس روش

LDL و HDL و کیلومیکرون‌های موجود در نمونه توسط PTA و یون‌های منیزیم رسوب داده می‌شوند. پس از سانتریفیوژ محلول روبروی شامل HDL می‌باشد که می‌توان با استفاده از معرف کلسترول بصورت آنزیماتیک اندازه‌گیری کرد.

معرف‌ها

Presentation	Content	Storage
R1: Precipitant Reagent	1×50 ml	2-8°C
R2: Cholesterol Reagent	2×50 ml	2-8°C

شرایط نگهداری

معرف‌ها در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد و در بسته تا تاریخ انقضاء روی ویال‌ها پایدار می‌باشند، مشروط بر اینکه آلوده نگردد، وجود کدورت و مواد خارجی از علائم خرابی معرف‌ها می‌باشد.

یادداشت

- گاهی ممکن است محلول روی رسوب پس از عمل سانتریفیوژ کدر باشد در این صورت ۵۰۰ میکرولیتر معرف رسوب دهنده به لوله اضافه کرده و پس از مخلوط کردن سانتریفیوژ گردد، سپس غلظت نهایی در ضریب رقت ضرب گردد.
- اسیدآسکوربیک تا ۲/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، بیلی روبین تا ۱۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و هموگلوبین تا ۱۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باعث تداخل در آزمایش نمی‌شود.

نمونه مورد آزمایش

از سرم یا پلاسما‌های هیپارینه یا EDTA دار می‌توان استفاده نمود. پایداری HDL در سرم یا پلاسما در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد دو روز و در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد ۷ روز و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ۳ ماه می‌باشد.

روش اندازه‌گیری

مرحله اول: رسوب‌گیری

از لوله‌های کوچک سانتریفیوژ یا لوله‌های همولیز استفاده و بصورت زیر عمل شود:

سرم	۲۰۰ میکرولیتر
محلول رسوب دهنده R1	۵۰۰ میکرولیتر
محتوای لوله‌ها را مخلوط کرده و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید. سپس در RPM ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه و یا در RPM ۱۰۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ نمایید. پس از عمل سانتریفیوژ محلول فوقانی را نهایتاً پس از ۱ ساعت از رسوبات جدا نمایید.	

مرحله دوم: اندازه‌گیری کلسترول

پارامترها: دما: ۲۵/۳۷ درجه سانتی‌گراد، طول موج: ۵۰۵ نانومتر، کووت: ۱ سانت، حجم نمونه: ۱۰۰ میکرولیتر، حجم معرف: ۱۰۰۰ میکرولیتر، خوانش: مقابل بلانک معرف، نوع واکنش: افزایشی.

نمونه یا کالیبراتور	بلانک	محلول روی رسوب (نمونه)
۱۰۰ میکرولیتر	-	
۱۰۰۰ میکرولیتر	۱۰۰۰ میکرولیتر	معرف کلسترول (R2)

لوله‌ها را مخلوط کرده، ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۲۰ دقیقه در دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه کرده و جذب نوری نمونه و کالیبراتور را در مقابل بلانک معرف در طول موج ۵۰۵ نانومتر بخوانید. پایداری رنگ ۳۰ دقیقه دور از نور مستقیم می‌باشد.

محاسبه

$$\text{HDL-Cholesterol (mg/dl)} = \frac{\text{A Sample}}{\text{A Calibrator}} \times \text{Cal. Conc.}$$

ضریب تبدیل واحد

$$\text{HDL (mg/dl)} \times 0.0259 = \text{HDL (mmol/L)}$$

تذکر

کدر بودن محلول فوقانی و یا شناور بودن قسمتی از رسوب بر روی محلول فوقانی پس از عمل سانتریفیوژ دلیل بر بالا بودن غلظت تری‌گلیسرید می‌باشد که در این حالت باید نمونه به نسبت ۱:۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و مرحله سانتریفیوژ مجدداً تکرار شود و جواب آزمایش در عدد ۲ ضرب شود.

مقادیر طبیعی

HDL کلسترول:

کودکان و بزرگسالان ≥ 35 mg/dl

$$\text{LDL (mg/dl)} = \text{Total Cholesterol} - \left(\frac{\text{TG}}{5} + \text{HDL}\right)$$

طبیعی: ≤ 130 mg/dl

پیش‌آگهی: 130-160 mg/dl

غیر طبیعی: ≥ 160 mg/dl

کنترل کیفی

جهت کنترل کیفی می‌توان از کالیبراتورها و کنترل‌های شرکت‌های معتبر استفاده نمود.

خصوصیات علمی کیت

ماکزیم حد سنجش: 150mg/dl

حساسیت: 1.0 mg/dl

صحت: در مقایسه با کیت و کنترل‌های تجارتي معتبر $r = 0.995$

دقت:

Within Run (n=20)

	Mean (mg/dl)	S. D. (mg/dl)	CV%
Level I	33	0.7	2.12
Level II	60	1.1	1.83

Between Run (n=20)

	Mean (mg/dl)	S. D. (mg/dl)	CV%
Level I	36	0.9	2.50
Level II	62	1.3	2.10

References:

- Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1999. P. 809-861.
- Schaefer EJ, McNamara J. Overview of diagnosis and treatment of lipid disorders. In: Rifia N, Warnik GR, Dominiczak MH, eds. Handbook of Lipoprotein testing. Washington: AACC Press; 1997. P. 25-48.

آدرس کارخانه: تهران، پارک فناوری پردیس، خیابان نوآوری ۹، پلاک ۹۶

کد پستی: ۱۶۵۷۱۶۷۳۶۴

نمبر اینترنتی: ۸۹۷۷۹۷۸۷

تلفن: ۰۲۱-۷۶۲۵۰۶۸۱-۴

www.BAYERPAUL.com