



پایداری و نگهداری محصول:

- * در دمای °C ۸-۲ تا تاریخ انقضا درج شده بر روی محصول قابل استفاده می‌باشد.
- * یخزدگی، قرار گرفتن در معرض نور، گرمای نامتعارف و آلودگی، باعث ناپایداری محتویات کیت می‌گردند.

مواد و تجهیزات مورد نیاز برای انجام آزمایش:

- کالیبراتور و کنترل
- سرم فیزیولوژی
- دستگاه اتوآنالایزر یا فوتومتر

شرایط آزمایش:

- طول موج مناسب: ۵۷۸ تا ۶۰۰ نانومتر (در صورت امکان از ۷۰۰ نانومتر به‌عنوان طول موج ثانویه استفاده شود)
- دمای مناسب: °C ۳۷

شرایط و پایداری نمونه:

- نمونه مناسب، سرم و پلاسما حاوی EDTA یا هپارین می‌باشد.
- همولیز و لیپمیک شدید نمونه باعث ایجاد خطا در نتایج می‌گردد.
- نمونه و ریجنت‌ها دور از نور قرار گرفته و نمونه‌ها در کمترین زمان آنالیز گردند.
- رعایت ۱۲-۱۴ ساعت ناشتایی به کسب نتایج بهتر کمک می‌کند.
- برای نگهداری در °C ۲۰- حتماً دقت داشته باشید که نمونه بلافاصله فریز گردد.
- نمونه‌ها به مدت ۷ روز در دمای °C ۸- و یک ماه در دمای °C ۲۰- پایدار می‌باشند.
- از آلوده شدن نمونه‌ها جلوگیری شود.

نحوه آماده‌سازی ریجنت‌ها:

** ریجنت‌ها به‌صورت آماده قابل استفاده هستند.

احتیاط و نکات ایمنی:

- از بلعیدن و تماس مستقیم با پوست خودداری گردد.
- در صورت تماس با چشم با آب فراوان شسته شود.
- این کیت صرفاً برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی شده است.
- در مورد چگونگی دور ریختن مواد طبق قوانین تدوین شده در آزمایشگاه عمل شود.

روش انجام آزمایش:

- (۱) دستگاه فوتومتر را روشن نموده و طول موج مناسب را انتخاب کنید.
- (۲) درون کووت‌های مجزا ۷۵۰ µl ریجنت شماره ۱ را با ۸ µl از نمونه، کالیبراتور و کنترل مخلوط نموده و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای °C ۳۷ انکوبه نمایید.
- (۳) دستگاه فوتومتر را توسط معرف بلانک صفر نمایید.
- (۴) خوانش اول جذب نوری (A1) را انجام دهید.

کیت تشخیص کمی HDL کلسترول دی آزما طب

محتویات کیت: Reagent 1 (1 x 45 ml)

Reagent 2 (1 x 15 ml)

کاربرد: تعیین کمی HDL-C در سرم و پلاسما حاوی EDTA یا

هپارین در آزمایشگاه‌های بالینی

مقدمه: لیپوپروتئین‌ها از تعدادی ذرات ناهمگن از جمله کلسترول تشکیل شده‌اند و با توجه به اندازه و محتوای لیپید و آپولیپوپروتئین متفاوت هستند. لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا برای حمل کلسترول از سلول‌های محیطی به کبد عمل می‌کنند، جایی که کلسترول به اسیدهای صفراوی تبدیل شده و از طریق روده دفع می‌شود. رابطه معکوس بین سطح HDL-C در سرم و بروز بیماری عروق کرونر قلب (CHD) در تعدادی از مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده شده است. اندازه‌گیری دقیق HDL-C هنگام ارزیابی خطر ابتلا به CHD از اهمیت حیاتی برخوردار است. در این کیت تست تشخیصی، روشی برای اندازه‌گیری مستقیم HDL-C ارائه شده است. اندازه‌گیری مستقیم در مقایسه با روش‌های دیگر، دقت و تکرارپذیری را بهبود می‌بخشد.

اساس آزمایش: Colorimetric, End Point Reaction

یون‌ها و حلال‌های موجود در معرف ۱ باعث حل و حذف شدن ذرات لیپوپروتئین به جز HDL می‌شود. کلسترول آزاد شده از لیپوپروتئین‌های non-HDL توسط دترجنت‌های موجود در معرف‌ها مهار شده و وارد واکنش نمی‌شوند

معرف دوم ذرات HDL باقی‌مانده را حل کرده و در اثر جفت شدن پراکسید هیدروژن تولید شده با کروموژن، ماده رنگی تولید می‌شود. رنگ تشکیل شده به‌طور مستقیم با غلظت HDL-C موجود در نمونه متناسب است.

اجزا و غلظت معرف‌ها:

Reagent	concentration
Reagent 1:	
Dextran Sulfate	≤ 10 g/dl
Magnesium Chloride Hexahydrate	≤ 5 g/dl 1
Preservative	
Brij 35	≤ 10 g/dl
Reagent 2:	
Detergent	≤ 2 %
PEG - Cholesterol Esterase	≤ 5 KU/L
PEG - Cholesterol Oxidase	≤ 5 KU/L
4 AAP	≤ 1 gr/dl
Peroxidase	≤ 8000 U/L



گرفتند و تا غلظت‌های ذکر شده، این آنالیت‌ها هیچ‌گونه تأثیر مداخله‌گرانه‌ای بر نتایج تست نداشتند.

- همولیز: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت هموگلوبین 500 mg/dL
- نری گلیسرید: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 1000 mg/dL
- بیلی‌روبین: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 40 mg/dL
- اسید آسکوربیک: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 50 mg/dL

استفاده در دستگاه اتوآنالایزر: این کیت برای استفاده با طیف وسیعی از دستگاه‌های سنجش بیوشیمی مناسب می‌باشد.

نکات:

- (۱) معرف بلانک همان ترکیب 750 µl ریجنت ۱ و 8 µl سرم فیزیولوژی یا آب مقطر است که بعد از خوانش اول با ریجنت دوم 250 µl مخلوط می‌شود.
- (۲) در این روش، کیت نباید به‌صورت تک محلولی استفاده شود لذا از تماس و اختلاط ریجنت‌ها اکیداً جلوگیری شده و تست مطابق مراحل آزمون انجام گردد.
- (۳) اعدادی که به‌عنوان دامنه مرجع ارائه گردیده فقط به‌عنوان یک راهنما مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج به‌دست‌آمده توسط هر آزمایشگاه ممکن است برای هر اقلیم و منطقه و در شرایط خاص قابل تغییر باشد.
- (۴) جهت کالیبراسیون و کنترل کیفی، توصیه می‌شود از کالیبراتور و سرم کنترل‌های شرکت دی‌آزما طب استفاده شود. همچنین امکان استفاده از کالیبراتور و سرم کنترل‌های سازگار با روش کیت از منابع معتبر موجود در کشور نیز وجود دارد.
- (۵) حجم معرف‌ها و نمونه را می‌توان به‌تناسب تغییر داد تا با هر نوع دستگاه سنجش بیوشیمی قابل خوانش باشد.

مراجع:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics.
2. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Edition W.B Saunders, 1987.
3. Laker, M. F., Clinical biochemistry.1996
4. CLSI/NCLLS Evaluation Protocol, EP5-A, 1999

نشانه‌ها:

هشدار		شرایط نگهداری ۲-۸ درجه سلسیوس	
تاریخ انقضاء		شماره ساخت	LOT
تاریخ تولید		دستورالعمل استفاده	
قابل مصرف در آزمایشگاه	IVD	تولیدکننده	
		شماره کاتالوگ	REF

(۵) سپس 250 µl از ریجنت شماره ۲ را نیز به کووت اضافه نموده و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه نمایید.

(۶) پس از آن خوانش دوم جذب نوری (A2) را انجام داده و سپس برای محاسبه از فرمول زیر استفاده کنید.

محاسبات:

$$\frac{\Delta \text{ Abs Sample}}{\Delta \text{ Abs Standard/Cal}} \times C \text{ Standard/Cal} = \text{HDL-C (mg/dl)}$$

$$\text{HDL (mg/dl)} \times 0.02586 = \text{HDL (mmol/l)}$$

دامنه مرجع:

مردان	زنان	حد مطلوب
> 60 mg/dl	> 65 mg/dl	حد مطلوب
35-60 mg/dl	45-65 mg/dl	حد قابل قبول
< 35 mg/dl	< 45 mg/dl	حد ریسک

نتایج عملکردی و کارایی کیت:

خطی بودن: با این روش مقدار HDL-C تا 230 mg/dl خطی اندازه‌گیری می‌شود. نمونه‌های با غلظت بالاتر از 200 mg/dl را به نسبت ۱ واحد نمونه با ۳ واحد سرم فیزیولوژی رقیق نموده و جواب‌ها را در عدد ۴ ضرب نمایید.

حساسیت: حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری 5 mg/dl می‌باشد.

دقت: تکرارپذیری با استفاده از نمونه‌های انسانی تعیین و نتایج زیر به دست آمد:

HDL C mean (mg/dl)	Within-run (CV%)	Between-run (CV%)
60	0.82	1.85
136	0.77	2.78
	n ¹ =25 replicate	n ¹ =4 runs

مقایسه روش‌ها:

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت HDL-C شرکت دی‌آزما طب (Y) با یکی از متداول‌ترین کیت‌های HDL-C با متد یکسان (X) بر روی ۴۸ نمونه بیمار نتیجه زیر به دست آمد:

$$Y=0.9814x + 0.7242, \quad r^2= 0.9941$$

عوامل مداخله‌گر

جهت بررسی احتمال تداخل آنالیت‌های موجود در سرم بر روی تست HDL-C، سرم‌های دارای مقادیر مختلف آنالیت‌های زیر مورد آزمون قرار