**Ćwiczenie 2**

**Cel:** Oznaczenie stężenia cholesterolu całkowitego w surowicy krwi

**Odczynniki:** Zestaw diagnostyczny BioSystems SA

**Materiał:** Surowica krwi

**Zasada metody:** Cholesterol jest oznaczany po enzymatycznej hydrolizie estrów cholesterolu przez esterazę cholesterolową and następnie oksydazę cholesterolową. Wskaźnikiem jest chinonoimina, która tworzy się z nadtlenku wodoru, 4-aminoantypiryny i fenolu w reakcji katalizowanej przez peroksydazę. Intensywność zabarwienia chininoiminy jest proporcjonalna do stężenia cholesterolu w badanej próbce i może być zmierzona spektrofotometrycznie przy λ=500 nm.







**Wykonanie:**

1. Przygotować trzy probówki i oznaczyć je jako: próba ślepa, standard, próba badana
2. Odpipetować do probówek roztwory według tabeli poniżej:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Próba ślepa** | **Standard** | **Próba badana** |
| **Odczynnik do cholesterolu** | 2 ml | 2 ml | 2ml |
| **OGRZEWAĆ W ŁAŹNI WODNEJ 37⁰C PRZEZ OK. 5 MIN, NASTĘPNIE DODAĆPOZOSTAŁE ODCZYNNIKI:** | | | |
| **Woda** | 20 µl | - | - |
| **Standard cholesterolu WAŻNE: 200 mg%** | - | 20 µl | - |
| **Próba badana (surowica)** | - | - | 20 µl |

1. Dokładnie wymieszać zawartość probówek i inkubować w 37⁰C przez 5 minut.
2. Odczytać absorbancję standardu i próby badanej wobec próby ślepej przy 500 nm.

**Wyniki:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Standard** | **Próba badana** |
| **Absorbcja przy 500 nm** |  |  |

**Obliczenia:**

Stężenie próby badanej = Absorbcja próby badanej / Abs standardu × Stężenie standardu

Stężenie standardu: ..........................

Wyliczone stężenie całkowitego cholesterolu w surowicy: ...................................................

**Interpretacja kliniczna dla oceny ryzyka arteriosklerozy:**

poziom pożądany: <200 mg%

podwyższone ryzyko: 200-239 mg%

wysokie ryzyko: >240 mg%

**Interpretacja wyniku:**