

## 总胆固醇(TC)检测试剂盒(COD-PAP 双试剂比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 产品简介：

胆固醇(Cholesterol)又称胆甾醇，是一种环戊烷多氢菲的衍生物，广泛存在于动物体内，其中脑、神经组织最丰富，在肾、脾、皮肤、肝和胆汁中含量也较高，用酶学方法测定总胆固醇(TotalCholesterol, TC)是生化检测中的常用方法，其特点是：1、灵敏度、准确度、精密度均高；2、使用温和的反应条件；3、操作简便；4、适用于自动分析仪。

总胆固醇(TC)检测试剂盒(COD-PAP 双试剂比色法)又称胆固醇氧化酶法或胆固醇氧化酶-过氧化物酶偶联法等，血液中的胆固醇约 1/3 为游离胆固醇，2/3 为与脂肪酸结合的胆固醇酯，后者被胆固醇酯酶(CEH)水解为游离胆固醇，游离胆固醇被胆固醇氧化酶(COD)氧化成胆甾烯酮，并产生过氧化氢，再经过氧化物酶(POD)催化，使 4-氨基安替比林与酚(三者合称 PAP)反应，生成红色醌亚胺色素(Trinder 反应)，分光光度计在 500~520nm 处进行比色测定，用于人或动物的血清、血浆、脑脊液、细胞、组织等样本中的总胆固醇含量定量测定。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成：

名称		规格	保存条件
总胆固醇(TC)检测试剂盒(COD-PAP 双试剂比色法)		100T	4℃
试剂(A):	Good's Buffer	2 × 25ml	4℃
Good's 溶液	显色剂		
	活性剂、稳定剂		
试剂(B):	胆固醇氧化酶	2 × 25ml	-20℃避光
COD-POD 溶液	4-氨基安替比林		
	CEH、POD		
临用前，按 A: B=1: 1 混合，即为 COD-PAP 工作液，4℃保存。			
试剂(C):TC 标准(5mmol/L)		1ml	-20℃避光
试剂(D):ddH2O		1ml	RT
使用说明书		1 份	
有效期		6 个月	

### 自备材料：

- 1、生理盐水或 PBS
- 2、离心管、小试管或 96 孔板
- 3、水浴锅或恒温箱
- 4、分光光度计或酶标仪
- 5、全自动或半自动生化分析仪

#### 操作步骤(仅供参考):

##### 1、样本处理:

①血清、血浆、脑脊液样本: 从待测样本中分离出的血清或血浆不应有溶血, 直接检测, 如超过线性范围, 用生理盐水稀释后检测。

②细胞样本:

a.取适量的细胞(一般推荐>10<sup>6</sup> 以上), 1000g 离心 10min, 弃上清, 留取沉淀。

b.用 PBS 或生理盐水清洗 1~2 次, 1000g 离心 10min, 弃上清, 留取沉淀。

c.加入 200~300  $\mu$ l 的 PBS 或生理盐水匀浆, 冰浴条件下超声破碎细胞, 功率 300W, 每次 3~5s, 间隔 30s, 重复 3~5 次, 亦可手动匀浆, 制备好的匀浆液不可离心; 亦可用 1~2% TritonX-100 冰浴 30~60min, 制备好的裂解液不可离心。

③组织样本: 准确称取适量组织样本, 按质量(g): 生理盐水或 PBS(ml)=1: 9 的比例, 加入生理盐水或 PBS, 冰浴条件下手动或机械匀浆, 2500~3000g 离心 10min, 取上清。

## 2、TC 测定

酶标仪、全自动生化分析仪 TC 测定			
加入物( $\mu$ l )	空白孔	标准孔	待测孔
ddH <sub>2</sub> O	3	—	—
TC 标准(5mmol/L)	—	3	—
待测样本	—	—	3
COD-PAP 工作液	300	300	300

分光光度计(1ml 比色杯)、半自动生化分析仪 TC 测定			
加入物(ml)	空白管	标准管	待测管
ddH <sub>2</sub> O	0.01	—	—
TC 标准(5mmol/L)	—	0.01	—
待测样本	—	—	0.01
COD-PAP 工作液	1	1	1

普通分光光度计(2ml 比色杯)TC 测定			
加入物(ml)	空白管	标准管	待测管
ddH <sub>2</sub> O	0.02	—	—
TC 标准(5mmol/L)	—	0.02	—

待测样本	—	—	0.02
COD-PAP 工作液	2	2	2

- ①各种仪器按上表依次加入试剂，充分混匀,37℃水浴中孵育 5min。  
②立即用相应仪器测定 500~520nm 吸光度，以空白孔(管)调零，读取标准孔(管)、测定孔(管)的吸光度，分别记为 A 标准、A 测定。

**机器参数：**

主波长/次波长	500/600nm
反应类型	终点法
反应方向	升反应(+)

**计算公式：**

血清、血浆等液体样本(空白调零)：

$$FC(\text{mmol/L})=A \text{ 测定}/A \text{ 标准} \times 5$$

血清、血浆等液体样本(全自动生化分析仪)：

$$FC(\text{mmol/L})=(A \text{ 测定}-A \text{ 空白})/(A \text{ 标准}-A \text{ 空白}) \times 5$$

组织样本(空白调零)：

$$FC(\text{mmol/g})=A \text{ 测定}/A \text{ 标准} \times 5 \times V2/(m \times 1000)$$

组织样本(全自动生化分析仪)：

$$FC(\text{mmol/g})=(A \text{ 测定}-A \text{ 空白})/(A \text{ 标准}-A \text{ 空白}) \times 5 \times V/(m \times 1000)$$

细胞样本(空白调零)：

$$FC(\text{mmol/L})=A \text{ 测定}/A \text{ 标准} \times 5 \times V2/V1$$

细胞样本(全自动生化分析仪)：

$$FC(\text{mmol/L})=(A \text{ 测定}-A \text{ 空白})/(A \text{ 标准}-A \text{ 空白}) \times 5 \times V2/V1 \text{ 式中： } m=\text{组织样本取样量 (g)}$$

V1=细胞样本取样量 (ml)

V2=样本匀浆液总体积 (ml)

**参考区间:**

健康成年人理想范围: <5.2mmol/L(<200mg/dl)

边缘升高: <5.23~5.69mmol/L(201~219mg/dl)

升高:  $\geq$ 5.72mmol/L( $\geq$ 220mg/dl)

备注: TC 标准(5mmol/L)=442.48mg/dl

**性能指标:**

外观	无色至淡黄色澄清液体
线性范围	0.1~13mmol/L(3.6~500mg/dl), R <sup>2</sup> >0.95
灵敏度	检测下限 0.1mmol/L(3.6mg/dl)
变异系数	批内<3%, 批间<5%
空白吸光值	<0.1(1cm 光径)
干扰因素	胆红素 <410 $\mu$ mol/L; 血红蛋白 <7g/L; 甘油三脂 <28.5mmol/L 时, 对结果无明细影响。

**注意事项:**

- 1、上述低温试剂避免反复冻融, 以免失效或效率下降。
- 2、COD-PAP 工作液如不经常使用, 应充分溶解后分装-20℃保存, 可 4℃短期保存。
- 3、本法可直接用于检测脑脊液中的 TC 含量, 但不能直接检测尿液中的 TC 含量, 因为未经处理的尿液中含有还原性物质, 影响过氧化物酶反应。
- 4、检测 TC 的血清或血浆宜用 EDTA 或肝素抗凝, 如不能及时测定, 密闭保存, 4℃可稳定 1 周, -20℃可以稳定半年以上。
- 5、本法线性范围可达 13mmol/L, 如果样本 TC 浓度过高, 结果可能呈假性降低, 应用生理盐水稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。
- 6、该试剂盒既可作终点法检测, 又可作速率法检测。
- 7、本法不适于检测游离胆固醇的浓度。

