

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____ -Пр/09

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей

компании ООО «Эйлитон» -

ООО «Юнимед-менеджмент»

А.Н.Шибанов

«15» апреля 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для количественного определения холестерина липопротеинов низкой плотности в сыворотке и плазме крови человека

«ЛПНП-ХОЛЕСТЕРИН-UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов ЛПНП-ХОЛЕСТЕРИН-UTS предназначен для количественного определения содержания холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП-холестерина) в сыворотке или плазме крови человека ферментативным методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

1.2. Набор основан на прямом методе определения ЛПНП-холестерина, без стадий осаждения и центрифугирования.

1.3. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (комплект 1), 200 (комплект 2) или 300 (комплект 3) определений при расходе 0,3 мл реагента 1 на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод прямого определения ЛПНП-холестерина включает в себя две стадии.

I. Разрушение всех видов холестерина, кроме ЛПНП-холестерина в анализированном образце с помощью следующих ферментативных реакций:

Эфиры _ холестерина + H_2O $\xrightarrow{\text{холестеролэстераза}}$ Холестерин + Жирные _ кислоты

Холестерин + O_2 $\xrightarrow{\text{холестеролоксидаза}}$ 4 - Холестенон + H_2O_2

$2H_2O_2 + \text{каталаза} \rightarrow 2H_2O + O_2$

II. Измерение ЛПНП-холестерина с применением специфических поверхностно-активных веществ проводят по схеме реакций, представленных ниже:

Эфиры _ холестерина + H_2O $\xrightarrow{\text{холестеролэстераза}}$ Холестерин + Жирные _ кислоты

Холестерин + O_2 $\xrightarrow{\text{холестеролоксидаза}}$ 4 - Холестенон + H_2O_2

$2H_2O_2 + N - \text{Диметоксианилин} + 4 - \text{Аминоантипирин} \xrightarrow{\text{пероксидаза}} \text{Хинонимин} + 4H_2O$

Концентрация ЛПНП-холестерина в анализируемом образце прямо пропорциональна интенсивности образующей окраски хромогена при 600 нм.

2. Клиническая диагностика

2.1. ЛПНП участвуют в доставке холестерина в клетки организма. Часто ЛПНП-холестерин называют «плохой холестерин», поскольку высокий уровень его содержания вызывает риск сердечно-сосудистых заболеваний. Увеличение концентрации ЛПНП-холестерина в плазме является показателем склонности к атеросклеротическим болезням, инфаркту миокарда, инсульту.

2.2. Клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, он должен объединять как клинические, так и лабораторные данные.

2.3. Состав набора

Компоненты и их концентрации в реакционной смеси:

Наименование	Состав	Концентрация
P1 Ферментный раствор, pH 7,0	Буфер Гуда	50 ммоль/л
	Холестериноксидаза	380 Е/л
	Холестеринэстераза	380 Е/л
	Каталаза	490 Е/л
	N-(2-гидрокси-3-сульфопропил)-3-5-диметоксианилин	0,45 ммоль/л
P2 Ферментно-субстратный раствор, pH 7,0	Буфер Гуда	50 ммоль/л
	4-Аминоантипирин	1 ммоль/л
	Пероксидаза	1000 Е/л
Калибратор ЛПНП-холестерина	Лиофилизат сыворотки человека	Точная концентрация указана на этикетке флакона

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения концентрации ЛПНП-холестерина от 0,07 до 12,5 ммоль/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность – не более 0,07 ммоль/л, коэффициент вариации результатов определений – не более 2,5%.

3.2. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

3.3. Величины концентрации ЛПНП-холестерина в сыворотке или плазме взрослого человека:

Степень риска ишемической болезни сердца	Концентрация ЛПНП-холестерина
Низкая	<3,4 ммоль/л
Средняя	3,4 - 4,1 ммоль/л
Высокая	>4,1 ммоль/л

Фактор пересчета: 1 ммоль/л = 1 мг/мл x 0,02586.

3.4. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4.2. Реагент 1 содержит N-диметоксианилин, реагент 2 содержит 4-аминоантипирин. Следует избегать попадания реагентов на кожу и слизистые. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.

4.3. Набор содержит калибратор на основе человеческой сыворотки. Используемые донорские сыворотки были предварительно проверены на отсутствие HbsAg и антител против HIV 1+2 и HCV. Тем не менее, следует обращаться с калибратором с теми же мерами предосторожности, как с образцами пациентов.

4.4. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.5. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально

инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, биохимический анализатор или фотоэлектроколориметр, длина волны 600 (530-630 нм),
- Термостатируемая при +37 °С кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- Термостат, обеспечивающий температуру +37±0,5 °С;
- Секундомер;
- Пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 4, 100, 300 и 1000 мкл;
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).
- Перчатки резиновые или пластиковые

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Негемолизированная гепаринизированная сыворотка или плазма крови. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови. **Внимание!** Анализ на ЛПНП-холестерин рекомендуется проводить сразу после отбора крови.

6.2. Образцы сыворотки и плазмы крови стабильны при температуре +2-8 °С – не более 7 суток.

6.3. Замораживание и оттаивание образцов сыворотки и плазмы крови не рекомендуется.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

7.2. Калибратор: в содержимое флакона добавить 1 мл дистиллированной воды, закрыть крышкой, перемешать до полного растворения, избегая вспенивания. Раствор калибратора после приготовления стабилен 7 дней при 2-8 °С или 5 недель при -20 °С.

7.3. Компоненты реакционной смеси отбирать в объемах, указанных в таблице:

Отмерить, мкл	Анализируемый образец	Калибровочная проба	Холостая проба
P1	300	300	300
Калибратор	-	4	-
Сыворотка или плазма крови	4	-	-
<i>Пробы перемешать и инкубировать при температуре +37 °С в течение 5 минут. Добавить:</i>			
P2	100	100	100

Пробы перемешать и инкубировать при температуре +37 °С в течение 5 минут.

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к реагенту 1 составляет 4:300).

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить оптическую плотность анализируемого образца ($A_{обр}$) и калибровочной пробы ($A_{кал}$) против холостой пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 600 (530-630) нм.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Концентрацию ЛПНП-холестерина в сыворотке или плазме крови (ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{A_{обр}}{A_{кал}} \times C_{кал}$$

где: C – концентрация ЛПНП-холестерина в анализируемом образце, ммоль/л;

$A_{обр}$ – оптическая плотность анализируемого образца, ед. опт. плотн.;

$A_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

$C_{кал}$ – концентрация холестерина в калибраторе (указана на этикетке флакона), ммоль/л.

9.2. Если концентрация холестерина в сыворотке или плазме крови выше 12,5 ммоль/л, анализируемый образец следует развести в два раза 0,9% раствором NaCl, повторно провести измерения согласно пп. 7-9 и полученный результат умножить на 2.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ЛПНП-ХОЛЕСТЕРИН – UTS» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора 12 месяцев.

10.3. Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флакона могут храниться при температуре +2-8 °С в течение 4 недель в темном месте, при условии достаточной герметичности флакона и отсутствия загрязнений.

10.4. Калибратор после его приготовления может храниться при температуре +2-8 °С в течение 7 дней, или в течение 5-и недель при минус 20 °С.

10.5. При помутнении и выпадении кристаллов реагенты непригодны к применению.

10.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Руководитель отдела производства реагентов
ООО «ЭЙЛИТОН»

В.Н.А.

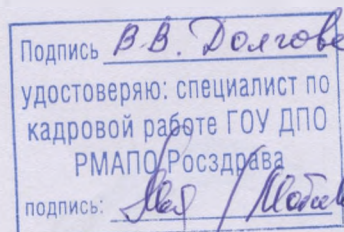
Нечаев В.Н.

«Согласовано»

зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГОУ ДПО
«РМАПО Росздравнадзора»

д.м.н., профессор Долгов В.В.

2009



По вопросам, касающимся качества набора «ЛПНП-ХОЛЕСТЕРИН – UTS» следует обращаться по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31.

Факс: (495) 564-86-41.

E-mail: office@unimedao.ru

<http://www.unimedao.ru>