

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____ -Пр/09



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей
компании ООО «Эйлитон» -
ООО «Юнимед-менеджмент»
_____ А.Н.Шибанов
«15» _____ 2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

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

«ЛПВП-ХОЛЕСТЕРИН-UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

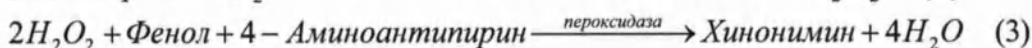
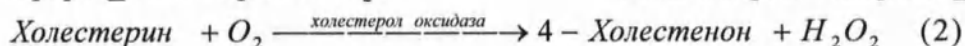
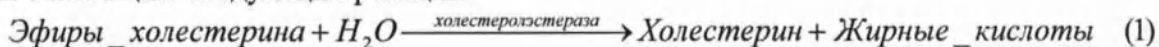
1.2. Набор основан на прямом методе определения ЛПВП-холестерина, без стадий осаждения и центрифугирования.

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 определения ЛПВП-холестерина основан на способности ряда детергентов переводить ЛПВП в растворимое состояние, что позволяет ЛПВП-холестерину вступать в реакции с холестеринэстеразой, холестериноксидазой и хромогенами, то время как липопротеины низкой плотности, липопротеины очень низкой плотности и хиломикроны не вступают в реакции с этими ферментами из-за образования конгломератов на поверхности детергента. ЛПВП-холестерин измеряется спектрофотометрически при 600 нм с помощью следующих реакций:



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

2.2. Клиническая диагностика

ЛПВП-холестерин известен как «хороший холестерин», поскольку высокий уровень его содержания снижает риск сердечных заболеваний.

Низкое содержание ЛПВП-холестерина считается большим риском для возникновения сердечных заболеваний. Снижение концентрации ЛПВП-холестерина в плазме является показателем склонности к атеросклеротическим болезням, инфаркту миокарда, инсульту.

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	1000 Е/л
	Детергент DSBmT	1 ммоль/л
P2 Ферментно-субстратный раствор, pH 7,0	Буфер Гуда	50 ммоль/л
	Холестеринэстераза	1500 Е/л
	4-Аминоантипирин	1 ммоль/л
	Пероксидаза	1300 Е/л
	Детергент	2%
	Аскорбатоксидаза	3000 Е/л
Калибратор холестерина	Лиюфилизат сыворотки человека	Точная концентрация указана на этикетке флакона

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения концентрации ЛПВП-холестерина от 0,07 до 5,2 ммоль/л, отклонение от линейности не превышает 5%.

3.2. Чувствительность – не более 0,07 ммоль/л, коэффициент вариации результатов определений – не более 2,5%.

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

3.4. Величины концентрации ЛПВП-холестерина в сыворотке или плазме взрослого человека:

Степень риска сердечных заболеваний	Мужчины	Женщины
Низкая	>1,3 ммоль/л	>1,55 ммоль/л
Средняя	0,90 - 1,3 ммоль/л	1,16 – 1,55 ммоль/л
Высокая	<0,90 ммоль/л	<1,16 ммоль/л

3.5. Фактор пересчета: $1 \text{ ммоль/л} = 1 \text{ мг/мл} \times 0,0259$

3.6. 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 4-аминоантипирин. Следует избегать попадания реагента 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, или фотоэлектроколориметр, длина волны 600 (530-630 нм),
- Термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- Термостат, обеспечивающий температуру $+37 \pm 0,5$ °С;
- Секундомер;
- Пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 3, 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.

Внимание! Не использовать антикоагулянты, содержащие цитраты. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

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

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	-	3	-
Сыворотка или плазма крови	3	-	-
<i>Пробы перемешать и инкубировать при температуре $+37$ °С в течение 5 минут. Измерить оптическую плотность анализируемого образца $A_{1обр}$ и калибровочной пробы $A_{1кал}$ против холостой пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 600 (530-630) нм. Добавить:</i>			
P2	100	100	100

7.4. 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 1:100).

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить оптическую плотность анализируемого образца $A_{2обр}$ и калибровочной пробы $A_{2кал}$ против холостой пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 600 нм.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать увеличение оптической плотности анализируемого образца: $\Delta A_{обр} = A_{2обр} - A_{1обр}$

9.2. Рассчитать увеличение оптической плотности калибровочной пробы: $\Delta A_{кал} = A_{2кал} - A_{1кал}$

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

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

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

- $\Delta A_{обр}$ – изменение оптической плотности анализируемого образца, ед. опт. плотн.;
- $\Delta A_{кал}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;
- $C_{кал}$ – концентрация холестерина в калибраторе, ммоль/л.

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

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ЛПВП-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»

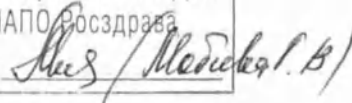
 Нечаев В.Н.

«Согласовано»

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

д.м.н., профессор Долгов В.В.

2009 г

Подпись 
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: 



По вопросам, касающимся качества набора «ЛПВП-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@unimeda.ru

<http://www.unimeda.ru>

