

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора

От _____ 20 ____ г.

№ _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «НПФ АБРИС+»

В.М. Марковский



02 ноября 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
ЛПНП-холестерина в сыворотке крови колориметрическим методом
(«ЛПНП-ХОЛЕСТЕРИН АБРИС+»)

1.Назначение

Набор предназначен для количественного определения концентрации ЛПНП-холестерина в сыворотке крови колориметрическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 100 или 250 определений при расходе 1,0 мл Осаждающего реагента на один анализ

2.Характеристика набора.

2.1.Принцип метода

Липопroteиды низкой плотности (ЛПНП) осаждаются при добавлении к исследуемому образцу гепарина при pH 5,04. После центрифугирования в супернатанте остаются липопroteиды высокой плотности (ЛПВП), липопroteиды очень низкой плотности (ЛПОНП) и хиломикроны. Концентрация холестерина ЛПНП определяется энзиматическим колориметрическим методом как разница между концентрацией общего холестерина в исследуемом образце и концентрацией холестерина в супернатанте, полученном после осаждения ЛПНП. Для проведения анализа необходим набор для определения концентрации общего холестерина, например, производства НПФ «Абрис+», кат.№ 305.1.100 или 305.1.250 или 305.1.500.

Инструкция составлена директором по науке ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н. Ю.Г.Поповым и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

2.2. Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

Осаждающий реагент [кислота лимонная 1-водная, 64 ммоль/л; гепарин, 50 000 Ед/л] - готов к применению - 1 флакон, 100 мл или 1 флакон, 250 мл;

Калибратор [холестерин, 5,17 ммоль/л; н-пропанол, 100%], готов к применению - 1 флакон (2,0 мл).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора.

Соответствие калибратора контрольному лабораторному раствору холестерина с концентрацией 5,17 ммоль/л, различие в %, не более - 5.

Тест на «выявление» концентрации ЛПНП-холестерина в контрольных сыворотках, аттестованных методом с использованием гепарина, отклонение - не более 5%.

Нормальные величины:

Норма: < 3,9 ммоль/л

Группа риска: 3,9-4,9 ммоль/л

Патология: > 4,9 ммоль/л

4. Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

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.

При работе с биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологических жидкостей человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать возбудителей различных инфекций.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- спектрофотометр, длина волны 500 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с фиксированным или переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01; 0,1 и 1,0 мл;
- центрифуга, 4000 g.
- перчатки хирургические резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Сыворотка крови. Образцы стабильны в течение 7 суток при температуре 2-8°C или до трех месяцев при температуре -20°C.

7. Проведение анализа

1. Процедура осаждения			
Внести в центрифужную пробирку	Исследуемая проба	Калибратор	Контроль на реактивы
Осаждающий реагент, мл	1,0	1,0	1,0
Исследуемая проба, мл	0,1	---	---
Калибратор, мл	---	0,1	---
Вода, мл	---	---	0,1
Смешать и инкубировать 10 минут при температуре 18-25°C. По окончании инкубации пробы центрифугировать в течение 10 мин при 4 000g или 2 мин при 10 000g. <u>Ни в коем случае не допускать попадания осадка в реагент для определения концентрации холестерина!</u> Определение холестерина супернатанта провести в течение часа после окончания центрифугирования.			
2. Определение концентрации холестерина супернатанта			
Внести в пробирку	Исследуемая проба	Калибратор	Контроль на реактивы
Монореагент, мл	1,0	1,0	1,0
Супернатант исследуемой пробы, мл	0,1	---	---
Супернатант калибратора, мл	---	0,1	---
Супернатант контроля на реактивы, мл	---	---	0,1
Смешать и инкубировать 10 минут при температуре 37°C. По окончании инкубации измерить оптическую плотность пробы ($E_{\text{пробы}}$) и калибратора ($E_{\text{калибратора}}$) против контроля на реактивы при $\lambda = 500$ нм и $d = 1$ см. Окраска стабильна не менее 2 часов после окончания инкубации.			

8. Расчеты

8.1. Холестерин супернатанта:

$$C = 5,17 \times \frac{E_{\text{пробы}}}{E_{\text{калибратора}}} \text{ (ммоль/л)}.$$

8.2. Холестерин ЛПНП:

$$\text{Холестерин ЛПНП} = \text{Общий холестерин} - \text{холестерин супернатанта}.$$

9. Условия хранения и эксплуатации набора

Срок годности набора - 12 месяцев.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в темном месте при температуре 18-25°C в течение всего срока годности.

Для проведения процедуры анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в ООО «НПФ АБРИС+» по адресу: 196135, Россия, Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, Россия, С.Петербург, пр. Гагарина, 65 ; тел./факс:(812) 727-24-40, 727-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>.

Д.м.н., профессор

А.В.Козлов

Директор по науке
ООО «НПФ АБРИС+», к.б.н.

Ю.Г.Попов

«СОГЛАСОВАНО»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Минздрав России»
д.м.н., профессор

В.В. Долгов

