

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
От _____ 200__ г.
№ _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ООО «НПФ АБРИС+»

В.М. Марковский
«21» _____ 2008 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
ЛПВП-холестерина в сыворотке и плазме крови энзиматическим методом
(«ЛПВП-ХОЛЕСТЕРИН АБРИС+»)

1. Назначение

Набор предназначен для количественного определения концентрации ЛПВП-холестерина в сыворотке и плазме крови прямым энзиматическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 50 или 100 определений при конечном объеме пробы 1,2 мл.

2. Характеристика набора.

2.1. Принцип метода

В результате взаимодействия исследуемого образца с Реагентом 1 происходит связывание ЛПНП-холестерина, ЛПОНП-холестерина и хиломикронов, что делает их недоступными для взаимодействия с холестеролэстеразой. Таким образом, в исследуемом образце

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.

остается доступным для определения только ЛПВП-холестерин. Далее определение проводится по следующей схеме:

$\text{ЛПВП-холестерин} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{холестеролэстераза}} \text{холестерин} + \text{жирные кислоты}$

$\text{Холестерин} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{холестеролоксидаза}} \text{холест-4-ен-3-ен-он} + \text{H}_2\text{O}_2$

$2 \text{H}_2\text{O}_2 + 4\text{-ААП} + \text{ГСДА} + \text{фенол} \xrightarrow{\text{пероксидаза}} \text{квининомин} + 4 \text{H}_2\text{O}$

Где: 4-ААП – 4-аминоантипирин, ГСДА- гидроксисульфопропилдиметилоксианилин.

Концентрация квининомина, определенная фотометрически при $\lambda = 578$ (600) нм, пропорциональна концентрации общего холестерина в исследуемом образце.

2.2. Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

Реагент 1 [Good's буфер – 75 ммоль/л, ГСДА – 0,3 г/л; детергенты и стабилизаторы] – готов к применению – 1 флакон, 45 мл или 1 флакон 90 мл.

Реагент 2 [4-ААП – 0,5 ммоль/л; [холестеролэстераза – 350 МЕ/л; холестеролоксидаза – 350 МЕ/л; пероксидаза – 1 000 МЕ/л; детергенты и стабилизаторы] – готов к применению – 1 флакон, 15

мл или 1 флакон 30 мл

калибратор [холестерин 1,29ммоль/л, детергенты] – готов к применению – 1 флакон, 1,0 мл.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора.

3.1. Линейность

Линейная область определения ЛПВП-холестерина – в диапазоне концентраций от 0,05 до 3,89 ммоль/л, отклонение от линейности не более 5%.

3.2. Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

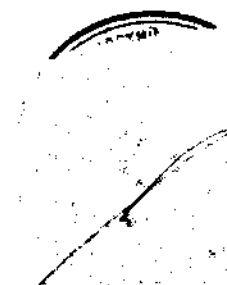
3.3. Чувствительность

Чувствительность определения ЛПВП-холестерина – не более 0,04 ммоль/л.

3.4. Нормальные величины:

	мужчины	женщины
Норма:	> 1,42 ммоль/л	> 1,68 ммоль/л
Группа риска:	0,9-1,42 ммоль/л	1,16-1,68 ммоль/л
Патология:	< 0,9 ммоль/л	< 1,16 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 578 (600) нм, термостатируемая кювета (37°C) с длиной оптического пути 1,0 см;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с фиксированным или переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,04 мл; 0,1 мл, 0,3 мл;
- перчатки хирургические резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Сыворотка или гепаринизированная плазма крови. Срок хранения исследуемых образцов при температуре 2-8°C не более 5 суток; при температуре -20°C не более 3 месяцев. Исследование гемолизируемых образцов недопустимо.

7. Проведение анализа

Для определения концентрации ЛПВП-холестерина подготовить пробы в соответствии с таблицей

Таблица

Внести в пробирку	Микроанализ	Полумикроанализ	Макроанализ
Реагент 1, мкл	300	450	900
Исследуемый образец или калибратор или дистиллированная вода (контроль на реактивы), мкл	4	6	12
Смешать и инкубировать 5 минут при температуре 37°C.			
Реагент 2, мкл	100	150	



Смешать и инкубировать 5 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 $\lambda = 578$ (600 нм), $d = 1$ см.

8. Расчеты

$$C = 1,29 \times \frac{E_{\text{пробы}}}{E_{\text{калибратора}}} \text{ (ммоль/л)}.$$

9. Условия хранения и эксплуатации набора

Срок годности набора - 12 месяцев.

Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться в темном месте при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.

Для проведения процедуры анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одно-канальные 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»

Директор ЗАО «Вымпел-Медцентр»

К.м.н. С.П.Кондрашов

