

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ № _____

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕН. ДИРЕКТОР
Е.Н.СХОЛЛЬ-ЭНГБЕРТС



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



Е.Н.Схолль-Энгбертс

2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
концентрации триглицеридов в сыворотке (плазме) крови
энзиматическим колориметрическим методом

(ТРИГЛИЦЕРИДЫ- ВИТАЛ)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения триглицеридов в сыворотке (плазме) крови человека в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 25 или 50 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Образующийся при гидролизе триглицеридов липазой свободный глицерин в результате последовательных ферментативных реакций окисляется кислородом воздуха с образованием перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогены, образуя окрашенный хинонимин, концентрация которого прямо пропорциональна содержанию триглицеридов в пробе и определяется фотометрически при длине волны 505 (470-540) нм.

Липаза

Триглицериды-----> глицерин + жирные кислоты

Глицерокиназа

Глицерин + АТФ -----> глицерил-3-фосфат + АДФ

Глицерофосфатоксидаза

Глицерил-3-фосфат + O₂ -----> диоксиацетон фосфат + 2H₂ O₂

Пероксидаза

H₂ O₂ + 4-аминоантипирин + 4-хлорфенол-----> хинонимин + 4 H₂ O

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: трис-НСI буфер, 50 ммоль/л, рН 7,5; 4-хлорфенол, 4,0 ммоль/л; хлорид магния, 1,0 ммоль/л; холат натрия, 3,5 ммоль/л; полидоканол, 1,0 г/л – 1 флакон (50 мл) или 2 флакона (по 50 мл);
- реагент 2: лиофилизированная смесь (конечная концентрация в рабочем реагенте: липаза, 150 ед/л; глицeroкиназа, 1200 ед/л; глицeroфосфатоксидаза, 4000 ед/л; пероксидаза, 5000 ед/л; АТФ, 2 ммоль/л; 4-аминоантипирин, 0,4 ммоль/л; альбумин бычий сывороточный, 0,08%) – 1 или 2 флакона;
- калибратор: калибровочный раствор с концентрацией 2,85 ммоль/л триглицеридов в пересчете на триолеин, готов к использованию – 1 флакон (1,0 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения концентрации триглицеридов – в диапазоне от 0,5 до 8,0 ммоль/л, отклонение от линейности - не более 5 %.

Чувствительность определения не - более 0,25 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины содержания триглицеридов в сыворотке (плазме) крови составляют 0,85 – 1,97 ммоль/л.

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

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка или плазма крови.

Гемоглобин в концентрации до 150 г/л, билирубин в концентрации до 5 мг/100мл и аскорбиновая кислота не влияют на правильность определения концентрации триглицеридов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил 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 сывороткой или плазмой крови следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 505 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,02 мл и 2,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РЕАГЕНТА

Содержимое одного флакона с реагентом 2 растворить в небольшом количестве (5,0 мл) реагента 1, полученное содержимое количественно перенести во флакон с реагентом 1 (откуда было взято 5,0 мл) и тщательно перемешать. Оставить полученный раствор после смешивания на 20 мин при комнатной температуре (+18 - 25°C), после чего он готов к применению.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 60 дней.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка (плазма) крови	0,02	-	-
Вода дистиллированная	-	-	0,02
Рабочий реагент	2,0	2,0	2,0
Калибратор	-	0,02	-

Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 15 мин при комнатной температуре.

Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при комнатной температуре в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 505 (470-540) нм.

Окраска стабильна в течение 1 ч после окончания инкубации при хранении проб в темном месте при комнатной температуре.

РАСЧЕТЫ

Концентрацию триглицеридов в сыворотке или плазме крови определить по формуле:

$$C = (E_{\text{оп}}/E_{\text{кал}} \times 2,85) - 0,11,$$

где: С – концентрация триглицеридов в анализируемой пробе, ммоль/л;

$E_{\text{оп}}$ - оптическая плотность анализируемой пробы, ед. опт. плотн.;

$E_{\text{кал}}$ - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

2,85 – концентрация триглицеридов в калибраторе, ммоль/л;

0,11 – поправка на содержание свободного глицерина в сыворотке (плазме) крови, ммоль/л.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 5 дней.

Срок годности набора-18 мес.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 6 мес.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение 3 мес. при условии достаточной герметизации флакона.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д.27.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и в Лабораторный Центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

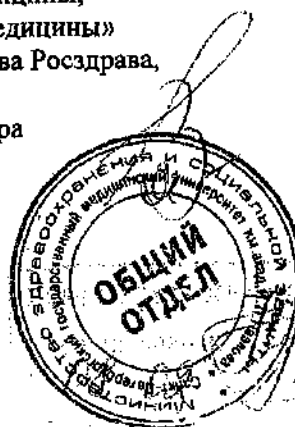
117246, Москва, Научный проезд, д.14 а.

Тел.: (499)120-60-96.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины,
директор НЦ «Институт лабораторной медицины»
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова Росздрава,
Главный специалист-эксперт
по клин. лаб. диагностике Росздравнадзора
по С-ЗФО, д. м. н., профессор



В.Л.Эмануэль

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 4 листа(ов)
Ген. директор
Схолль-Энгбертс Е.Н.

3

