

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от 22.02.2009 г. № 3494-13/0



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н.Схолль-Энгбертс

2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации холестерина липопротеидов высокой плотности в сыворотке (плазме) крови энзиматическим колориметрическим методом с иммуноингибированием, без осаждения

(HDL-холестерин-ВИТАЛ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов HDL-холестерин-ВИТАЛ предназначен для количественного определения концентрации холестерина липопротеидов высокой плотности (HDL-холестерин) в сыворотке (плазме) крови человека энзиматическим колориметрическим методом с иммуноингибированием, без осаждения в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Липопротеиды высокой плотности (HDL) – антиатерогенная липидная фракция. Кроме HDL, в периферической крови содержатся липопротеиды низкой плотности (LDL), липопротеиды промежуточной плотности (IDL), липопротеиды очень низкой плотности (VHDL) и хиломикроны. Низкий уровень HDL-холестерина является положительным прогностическим признаком для пациентов с атеросклерозом и ишемической болезнью сердца.

Набор рассчитан для проведения 50 или 100 определений при расходе 0,9 мл реагента 1 и 0,3 мл реагента 2 на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Антитела против β -липопротеидов человека, входящие в состав реагента 1, связывают все фракции липопротеидов, кроме HDL. Образовавшийся иммунный комплекс не взаимодействует с ферментами, входящими в состав реагента 2. Холестеринэстераза и холестериноксидаза, взаимодействуют только с HDL-холестерином. При гидролизе HDL-холестерина холестеринэстеразой образуется свободный холестерин, который окисляется кислородом воздуха под действием холестериноксидазы с образованием эквимольного количества перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации HDL-холестерина в анализируемой пробе.



Handwritten signature and date 21.12.09.

2.2. Состав набора:

- реагент 1: {HEPES (N,N-бис[2-гидроксиэтил-2-аминоэтансульфоновая] кислота, 30 ммоль/л; пероксидаза, 2400 Ед/л; 4-аминоантипирин, 0,9 ммоль/л; козы антитела к человеческому β -липопротеину, 10 мг/л; аскорбатокисдаза, 2700 Ед/л}, рН 7,0, готов к использованию - 1 флакон (45 мл) или 2 флакона (по 45 мл);

- реагент 2: {HEPES (N,N-бис[2-гидроксиэтил-2-аминоэтансульфоновая] кислота, 30 ммоль/л; холестериноксидаза, 20000 Ед/л; N-этил-N-(2-гидрокси-3-сульфопропил)-3,5-диметокси-4-фторанилин, F-DAOS, 0,8 ммоль/л; холестеринэстераза, 4000 Ед/л}, рН 7,0, готов к использованию - 1 флакон (15 мл) или 2 флакона (по 15 мл);

- калибратор (лиофилизированная сыворотка крови человека, концентрация HDL-холестерина после растворения в 3,0 мл дистиллированной воды указана в паспорте на набор и на этикетке флакона) - 1 флакон.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации HDL-холестерина – в диапазоне от 0,15 до 4,66 ммоль/л, отклонение от «линейности» - не более 5 %.

Чувствительность определения – не более 0,1 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5 %.

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

Нормальные величины концентрации HDL-холестерина в сыворотке или плазме крови составляют 1,4 – 1,55 ммоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин HDL-холестерина для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

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 набором необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. кровь человека является потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- Автоматический биохимический анализатор или спектрофотометр, длина волны 600 (593)/700 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные, позволяющие отмерять объемы жидкости 10 мкл, 300 мкл и 900 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3,0-5,0 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая сыворотка или гепаринизированная плазма крови. Образцы сыворотки или плазмы крови можно хранить при температуре 2-8°C не более 7 суток; при необходимости более длительного хранения (до 6 недель) – при температуре минус 70°C и ниже. Повторное замораживание образцов не допускается.

7. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течение времени не менее 30 мин.

Подготовка реагентов

Реагент 1 и реагент 2 готовы к использованию.

Подготовка калибратора

Во флакон с калибратором внести 3,0 мл дистиллированной воды и перемешать до полного растворения лиофилизата при осторожном перемешивании при комнатной температуре.

Приготовленный калибратор можно хранить при температуре 2-8°C не более 7 сут.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка (плазма) крови	0,01	-	-
Реагент 1	0,9	0,9	0,9
Калибратор	-	0,01	-

Пробы тщательно перемешать, инкубировать при температуре 37°C в течение 5 мин (точно) и измерить величину оптической плотности (ОП) опытных проб и калибровочной пробы (ОП₁) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 600(593)/700 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Во все пробирки добавить по 0,3 мл реагента 2, пробы тщательно перемешать, инкубировать при температуре 37°C в течение 5 мин (точно) и повторно измерить величину ОП анализируемых проб и калибровочной пробы (ОП₂) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 600(593)/700 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Вычислить разность ОП для каждой опытной пробы и для калибровочной пробы по формуле:

$$\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1$$

Концентрацию HDL-холестерина (С, ммоль/л) в анализируемых пробах сыворотки или плазмы крови рассчитать по формуле:

$$C = (\Delta ОП_{оп} : \Delta ОП_{кал}) \times C_{кал}$$

где: $\Delta ОП_{оп}$ – величина разности ОП анализируемых проб сыворотки или плазмы крови, ед. опт. плотн.;

$\Delta ОП_{кал}$ – величина разности ОП калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

$C_{кал}$ – концентрация HDL-холестерина в калибраторе, ммоль/л.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор HDL-холестерин-ВИТАЛ должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 5 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 1 год.

Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в темном месте не более 6 недель.

Калибратор после растворения можно хранить при температуре 2-8 °C не более 7 сут.

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.

Если концентрация триглицеридов в анализируемой пробе превышает 13,7 ммоль/л, необходимо анализируемый образец развести физиологическим раствором, повторить анализ и полученный результат умножить на коэффициент разведения.

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

По вопросам, касающимся качества набора HDL-холестерин-ВИТАЛ, следует обращаться в ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

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

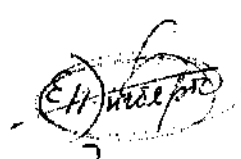
Тел/факс: (812) 326-61-98.

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

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

Тел.: (499)120-60-96.

Генеральный директор
ООО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики
СПбГМУ им. И.П.Павлова,
доктор мед. наук, профессор



В.Л.Эмануэль

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 4 листа

Ген. директор
Скопль-Энгберто Е.Н.

