

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2011 г. № _____

КОПИЯ ВЕРНА
ГЛАВНЫЙ ДИРЕКТОР

Е.Н. СХОЛЛЬ-ЭНГБЕРТС



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



Е.Н. СХОЛЛЬ-ЭНГБЕРТС

_____ 2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
концентрации холестерина липопротеидов высокой плотности
в сыворотке (плазме) крови методом избирательной преципитации

(HDL-Холестерин-Витал)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор HDL-Холестерин-Витал предназначен для количественного определения концентрации холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке (плазме) крови методом избирательной преципитации в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 330 определений при расходе 0,3 мл реагента 1 на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Липопротеиды низкой плотности и липопротеиды очень низкой плотности осаждаются под действием фосфорнофольфрамовой кислоты в присутствии ионов Mg^{2+} . После центрифугирования в надосадочной жидкости остается только фракция липопротеидов высокой плотности, и холестерин, содержащийся в этой фракции, выявляют энзиматическим методом и определяют фотометрически при длине волны 500 (490-505) нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: осаждающий реагент, состоящий из фосфорнофольфрамовой кислоты, 0,55 ммоль/л, и магния хлорида, 25 ммоль/л; готов к использованию - 1 флакон (100 мл) или 2 флакона (по 50 мл);
- калибратор: калибровочный раствор холестерина, 1,29 ммоль/л, в смеси 1-пропанола, 6%, и полидоканола, 10%; готов к использованию - 1 флакон (5,0 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения концентрации HDL-холестерина – в диапазоне от 0,2 до 5,0 ммоль/л, отклонение от «линейности» - не более 5 %.

Чувствительность определения – не более 0,15 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом. Калибратор в наборе восходит к стандартным материалам NIST.

Нормальные величины концентрации холестерина ЛПВП в сыворотке или плазме крови составляют: у мужчин – 1,45-2,0 ммоль/л, у женщин – 1,7-2,1 ммоль/л.

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

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка или плазма крови.

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 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 500 нм, фотозлектроколориметр или программируемый фотометр, длина волны 490-505 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- секундомер;
- термостат, поддерживающий температуру $+37\pm 1^{\circ}\text{C}$;
- центрифуга, обеспечивающая скорость вращения 4000-10000 g;
- пробирки центрифужные вместимостью 1,5 мл;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,15; 0,2; 0,3 и 2,0 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3,0 – 5,0 мл;
- вода дистиллированная;
- набор реагентов для определения концентрации общего холестерина энзиматическим методом;
- физиологический раствор (0,9% NaCl)
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Реагент 1 и калибратор готовы к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Реакция преципитации.

В центрифужные пробирки вместимостью 1,5 мл внести по 0,15 мл анализируемых проб сыворотки или плазмы крови и добавить в каждую пробирку по 0,3 мл реагента 1. Одновременно подготовить калибровочную пробу – к 0,15 мл калибратора добавить 0,3 мл реагента 1.

Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) в течение 10 мин, после чего исследуемые пробы, кроме калибровочной пробы, центрифугировать при комнатной температуре в течение 10 мин при 4000g или в течение 1-2 мин при 10 000 g; надосадочную жидкость (супернатант) отделить.

В супернатанте не позднее, чем через 1 ч, определить концентрацию холестерина ЛПВП.

Для анализа следует использовать только прозрачный супернатант. В случае мутного супернатанта (неполное осаждение) или при содержании триглицеридов более 4,0 ммоль/л пробу следует развести в 2 раза физиологическим раствором и повторно осадить центрифугированием; в последующем полученный результат надо умножить на 2.

2. Определение концентрации холестерина ЛПВП

Приготовить рабочий реагент для определения общего холестерина согласно Инструкции по применению к набору для определения холестерина.

В пробирки вместимостью 3,0-5,0 мл внести по 0,2 мл супернатанта анализируемых проб сыворотки или плазмы крови и 0,2 мл калибровочной пробы (разбавленного калибратора), добавить по 2,0 мл рабочего реагента для определения холестерина, тщательно перемешать и инкубировать при комнатной температуре в течение 10 мин или при температуре +37°C в течение 5 мин, после чего измерить оптическую плотность исследуемых проб и калибровочной пробы против контрольной (холостой) пробы (0,2 мл бидистиллированной воды +2,0 мл рабочего реагента) при длине волны 500 (490-505) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Окраска растворов стабильна в течение 1 ч после окончания инкубации при предохранении проб от воздействия прямого солнечного света.

РАСЧЕТЫ

Концентрацию (С) холестерина ЛПВП в анализируемых пробах сыворотки или плазмы крови (ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{оп}}{E_{кал}} \times 1,29,$$

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

$E_{оп}$ – оптическая плотность анализируемой пробы, ед. оп. плотн.;

$E_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. оп. плотн.;

1,29 – концентрация холестерина в калибраторе, ммоль/л;

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре (+18-25°C) в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 12 мес.

Реагент 1 после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при комнатной температуре в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флакона.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при комнатной температуре не более 6 мес при условии достаточной герметичности 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 на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

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

