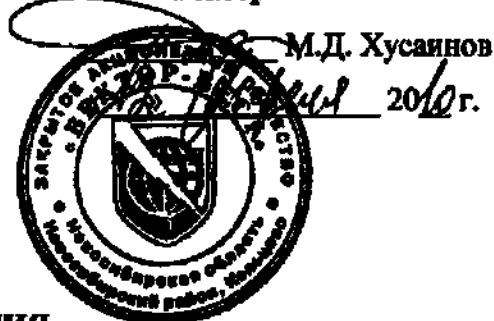


УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 20__ г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ЗАО «Вектор-Бест»



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения концентрации общего холестерина
в сыворотке и плазме крови ферментативным методом
(ХОЛЕСТЕРИН-НОВО)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов **ХОЛЕСТЕРИН-НОВО** предназначен для количественного определения содержания общего холестерина в сыворотке и плазме крови человека ферментативным методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (вариант 1), 200 (вариант 2) или 500 (вариант 3) определений общего холестерина при расходе 1,0 мл реагента на одно определение.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод определения основан на том, что под действием холестеринэстеразы происходит гидролиз эфиров холестерина с образованием свободного холестерина. Холестериноксидаза катализирует гидролиз холестерина с образованием холестеренона и перекиси водорода. Перекись водорода под действием пероксидазы в реакции с 4-аминоантипирином и фенолом образует окрашенный продукт – хинонимин, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации холестерина в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 500 (490-520) нм.

2.2. Состав набора

Набор может поставляться в трех вариантах комплектации (варианты 1, 2 и 3).

*Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии,
к.б.н. Л.В. Глазьев и под. научным сотрудником, к.т.н. В.К. Старостиной.*

В состав набора входят:

- реагент: пиперазин-1,4-бис(2-этансульфоновая кислота) (ПИПЕС), 0,05 моль/л; натрий холевокислый, 1,4 ммоль/л; магний хлористый, 84 ммоль/л; фенол, 0,5 г/л; 4-аминоантипирин, 0,06 г/л; холестеринэстераза, 400 Е/л; холестериноксидаза, 400 Е/л; пероксидаза, 1000 Е/л; готовый к использованию – 2 флакона (по 50 мл) (вариант 1), 2 флакона (по 100 мл) (вариант 2) или 2 флакона (по 250 мл) (вариант 3)
- калибратор – калибровочный раствор общего холестерина, 4,65 ммоль/л, содержащий неонол АФ 9-12, 20%; изопропанол, 10% и натрия азид, 0,1%, готовый к использованию – 1 флакон (3,0 мл) (варианты 1 и 2) или 2 флакона (по 3,0 мл) (вариант 3).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- 3.1. Линейность. Линейная область определения концентрации общего холестерина – в диапазоне от 1,5 до 20 ммоль/л. Отклонение от «линейности» – не более 5%.
- 3.2. Чувствительность определения – не более 1,0 ммоль/л.
- 3.3. Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5%.
- 3.4. Нормальные величины концентрации общего холестерина в сыворотке и плазме крови – менее 5,20 ммоль/л.
- 3.5. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации общего холестерина у исследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а.
- 4.2. Реагент содержит фенол и 4-аминоантипирин. Следует избегать попадания реагента на кожу и слизистые. В случае его попадания на кожу и слизистые необходимо промыть пораженные участки большим количеством проточной воды.
- 4.3. 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.).
- 4.4. 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 гепатитов или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

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

- Спектрофотометр, длина волны 500 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 490-540 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- пипетки-дозаторы, позволяющие отбирать объемы жидкости 10, 20, 100, 200 и 1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$;
- шейкер;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- секундомер;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови, гепаринизированная или ЭДТА плазма крови.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) не более 1 сут, при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 7 сут, или при температуре минус 20°C и ниже – не более 1 мес.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внести в каждую пробирку по 1000 мкл реагента, поместить пробирки в термостат и перед добавлением анализируемой пробы (сыворотка, плазма крови) выдержать в течение 5 мин при температуре $+37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мкл	Контрольная (холостая) проба	Опытная проба	Калибровочная проба
Реагент	1000	1000	1000
Сыворотка, плазма крови	–	10	–
Калибратор	–	–	10
Вода дистиллированная	10	–	–

Пробы тщательно перемешать, выдержать в течение 5 мин при температуре $+37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$; пробы окрашиваются в малиновый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить оптическую плотность опытных и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 500 (490-540) нм. Окраска устойчива в течение 1 ч.

9. РАСЧЕТЫ

Концентрацию общего холестерина в сыворотке и плазме крови определить по формуле:

$$C = \frac{E}{E_k} \times C_k,$$

где: C – концентрация общего холестерина, ммоль/л;

E – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

E_k – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

C_k – концентрация общего холестерина в калибраторе, ммоль/л.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов ХОЛЕСТЕРИН-НОВО должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности (1 год). Допускается хранение набора при температуре до +25 °С не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Реагент после вскрытия флакона можно хранить в защищенном от света месте в плотно закрытом виде при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности.

10.3. Калибратор после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытом виде при температуре +2-8 °С не более 1 мес.

10.4. Для проведения анализа использовать негемолизированную сыворотку крови, гепаринизированную или ЭДТА плазму крови.

10.5. Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 1 сут, при температуре +2-8 °С не более 7 сут, или при температуре минус 20 °С и ниже – не более 1 мес.

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

10.7. Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

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

По вопросам, касающимся качества набора ХОЛЕСТЕРИН-НОВО, следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, в/я 121,
тел. (383) 227-67-64, 227-75-50, тел./факс (383) 336-73-46

и в Лабораторный Центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:
117246, Москва, Научный проезд, д. 14А, тел. (499) 120-60-95; 120-60-96.

Вед. научный сотрудник, к.х.н.
ЗАО «Вектор-Бест»

С.А.Р.

В.К. Старостина

Начальник отдела биохимии, к.б.н.
ЗАО «Вектор-Бест»

Л.В.Г.

Л.В. Гасвая

Проректор ГОУ ВПО НГМУ Росздрава
по лечебной работе, д.м.н., профессор
М.П.



Е.Л. Потеряева

С.А.Р.