



УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Департамента
Государственного контроля
качества, эффективности,
безопасности лекарственных
средств и медицинской
техники Минздрава России

Р. У. Хабриев

2000 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения липопротеинов
высокой плотности (осаждающий реагент с калибратором)

(ЛВП-ХОЛЕСТЕРИН-НОВО)

Рекомендована к утверждению
экспертной комиссией по лабораторным реагентам
Комитета по новой медицинской технике МЗ РФ
(протокол № 6 от 26 июня 2000 г.)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ЛВП-ХОЛЕСТЕРИН-НОВО предназначен для
количественного определения содержания холестерина липопротеинов
высокой плотности (ЛВП-холестерина) в сыворотке крови человека в
клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-
исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 0,5 мл
осаждающего реагента на одно определение и пригоден для различных
вариантов микроанализа.

Инструкция составлена зав. лабораторией, к.х.н. В.И. Пупковой - сотрудником ЗАО «Вектор-Бест» и зав.
КДЛ А.Н. Цибиным - сотрудником Областной клинической больницы г. Новосибирска

20/11

ПРИНЦИП МЕТОДА

Липопротеины низкой и очень низкой плотности осаждаются под действием фосфорновольфрамовой кислоты в присутствии ионов магния при центрифугировании. Фракция липопротеинов высокой плотности остается в растворе. Холестерин, содержащийся в этой фракции, выявляют ферментативным методом и определяют фотометрически при длине волны 500 нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- Осаждающий реагент – раствор фосфорновольфрамовой кислоты, 0,42 ммоль/л, содержащий магний хлористый, 20 ммоль/л, готовый к использованию – 1 банка (100 мл);
- Калибратор – калибровочный раствор холестерина, 1,29 ммоль/л, содержащий изопропиловый спирт, 10 %, неолон, 20 %, натрия азид, 0,1 %, готовый к использованию – 1 флакон (5 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации ЛВП-холестерина – в диапазоне 0,70–3,00 ммоль/л, отклонение от линейности – не более 7 %.

Чувствительность определения – не более 0,60 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов измерений – не более 7 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным с использованием данного осаждающего реагента.

Нормальные величины концентрации ЛВП-холестерина в сыворотке крови:

0,90–1,80 ммоль/л – у мужчин;

1,00–2,10 ммоль/л – у женщин.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин у исследуемого контингента людей.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Калибратор содержит токсичные компоненты. При работе с калибратором не следует допускать его попадания на кожу, при попадании калибратора на кожу следует промыть пораженное место проточной водой.

При работе с сывороткой или плазмой крови необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы человеческой крови следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

- Спектрофотометр (длина волны 500 нм), кювета с длиной оптического пути 1 см;
- центрифуга, обеспечивающая скорость вращения более 4000 об/мин.;
- пробирки центрифужные;
- термостат, поддерживающий температуру 37 ± 1 °С;
- набор реагентов для определения общего холестерина ферментативным методом («Новохол», ТУ 9398–267–23548172–97);
- пипетки-дозаторы, позволяющие отбирать объёмы жидкости 100, 200, 500 и 1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3–5 мл;
- секундомер.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Реакция осаждения

В центрифужные пробирки внести по 200 мкл сыворотки крови, к ним прилить по 500 мкл осаждающего реагента.

Одновременно аналогичным образом разбавить калибратор холестерина.

Пробы тщательно перемешать, выдержать 10 мин при комнатной температуре (+18–25 °С), после чего исследуемые пробы, кроме калибратора, центрифугировать в течение 10 мин при 4000 об/мин.

Супернатант отделить. В супернатанте не позднее, чем через 1 ч, определить ЛВП-холестерин, используя набор для ферментативного определения холестерина «Новохол» или аналогичный.

Для анализа должен использоваться только прозрачный супернатант. В случае неполного осаждения (мутный супернатант), пробу следует разбавить 1:1 раствором натрия хлористого, 0,9%, и осаждение повторить. Результат умножить на 2.

2. Ферментативное определение ЛВП-холестерина

Приготовить раствор рабочего реагента для определения общего холестерина согласно инструкции к набору.

В пробирки внести по 100 мкл супернатанта и разбавленного калибратора, добавить по 1,0 мл раствора рабочего реагента, тщательно перемешать и выдержать в течение 25 мин при температуре $+37 \pm 1$ °С. Оптическую плотность исследуемых проб и калибратора измерить при длине волны 500 нм против раствора рабочего реагента в кювете с длиной оптического пути 1 см.

Окраска растворов устойчива в течение 1 ч.

РАСЧЁТ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛВП-ХОЛЕСТЕРИНА

Содержание ЛВП-холестерина в сыворотке крови (С) в ммоль/л определить по формуле:

$$C = \frac{E}{E_K} \times 1,29 ,$$

где: E – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. пл.;

E_K – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. пл.;

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

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение набора должно производиться при комнатной температуре ($+18-25$ °С) в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности.

Срок годности набора — 12 мес.

Осаждающий реагент после вскрытия банки можно хранить при комнатной температуре (+18–25 °С) в течение срока годности набора.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытом виде при температуре (+2–8 °С) не более 3 мес.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово,
а/я 121, ЗАО «Вектор-Бест»,
тел. (3832) 39-62-23, 32-37-58,
тел./факс (3832) 32-67-49, 32-67-52,
E-mail: vbobtk@online.nsk.su

Зав. лабораторией

ЗАО «Вектор-Бест», к.х.н.



В.И. Пупкова

Зав. КДЛ Областной клинической

больницы г. Новосибирска



А.Н. Цибин