

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусаинов

2015 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
холестерина липопротеидов высокой плотности
в сыворотке и плазме крови прямым методом
«ЛВП-Холестерин-Ново-А»
(варианты 1 и 2)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации холестерина липопротеидов высокой плотности в сыворотке и плазме крови прямым методом «ЛВП-Холестерин-Ново-А» (далее по тексту – набор) предназначен для количественного определения содержания холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛВП) в сыворотке и плазме крови человека прямым ферментативным колориметрическим методом.

1.2. Набор рассчитан на:

- 100 определений при расходе 0,6 мл реагента 1 и 0,2 мл реагента 2 на одно определение (вариант 1);
- 300 определений при расходе 0,6 мл реагента 1 и 0,2 мл реагента 2 на одно определение, для проведения дополнительного определения концентрации ЛВП-холестерина (вариант 2, без калибратора).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Метод основан на избирательной солюбилизации ЛВП-холестерина детергентом. ЛВП-холестерин вступает в последующие реакции с холестеринэстеразой (ХЭ), холестериноксидазой (ХОД) и хромогеном с образованием хинониминового красителя. Другие фракции липопротеидов – ЛНП, ЛОНП и хиломикроны не вступают в эти реакции вследствие адсорб-

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой и вед. научным сотрудником Т.И. Суменко.

ции детергента на их поверхности. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации ЛВП-холестерина в исследуемом образце и определяется фотометрически при длине волны 600 (570-630) нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

– реагент 1: буфер Гуда, 50 ммоль/л, pH 7,0; ХОД, 1000 Е/л; пероксидаза, 1300 Е/л; N,N-бис-(4сульфобутирил)-m-толуидин (DSBmT), 1,0 ммоль; готовый к использованию – 3 флакона (по 20 мл) (вариант 1); 4 флакона (по 45 мл) (вариант 2);

– реагент 2: буфер Гуда, 50 ммоль/л, pH 7,0; ХЭ, 1500 Е/л; 4-аминоантипирин, 1,0 ммоль/л; аскорбатоксидаза, 3000 Е/л; детергент; готовый к использованию – 1 флакон (20 мл) (вариант 1); 4 флакона (по 15 мл) (вариант 2);

– калибратор на основе сыворотки крови человека с концентрацией ЛВП-холестерина 1,0 ммоль/л, аттестованный относительно сертифицированного референсного материала NIST SRM 1951с; концентрация ЛВП-холестерина в калибраторе может несколько отличаться от указанной величины, точная величина указана на этикетке флакона и в паспорте; лиофилизированный – 1 флакон (вариант 1).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1.* Чувствительность. Для определения использовать рабочий калибратор производителя с концентрацией ЛВП-холестерина 0,03 ммоль/л. Не более 0,03 ммоль/л.

3.2.* Линейность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «линейность» – отклонение определяемого значения концентрации ЛВП-холестерина от теоретического значения в рабочих калибраторах производителя с концентрациями ЛВП-холестерина 0,1; 1,2; 2,4; 5,4 ммоль/л,%. Процент «линейности» составляет 95-105%.

3.3.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – отклонение определяемого значения концентрации ЛВП-холестерина от расчетного в пробе, полученной путем смешения равных объемов рабочих калибраторов производителей с концентрациями ЛВП-холестерина 1,2 и 2,4 ммоль/л, %. Процент «открытия» составляет 95-105%.

3.4.* Воспроизводимость. Коэффициент вариации (К.В.) – относительный показатель разброса результатов определения (по концентрации), рассчитанный как отношение среднеквадратичного отклонения к среднеарифметическому значению, %. Для определения использовать рабочий калибратор производителя с концентрацией ЛВП-холестерина 2,4 ммоль/л. Не превышает 5%.

3.5.* Допустимый разброс результатов при параллельных определениях одной пробы

разными наборами одной серии, %. Для определения использовать рабочий калибратор производителя с концентрацией ЛВП-холестерина 2,4 ммоль/л. Не превышает 5%.

3.5. Нормальные величины концентрации ЛВП-холестерина:

– мужчины: 0,90-1,55 ммоль/л;

– женщины: 1,20-1,55 ммоль/л.

Значения ЛВП-холестерина ниже 0,90 ммоль/л для мужчин и 1,20 ммоль/л для женщин указывают на высокий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. При величине концентрации ЛВП-холестерина выше 1,55 ммоль/л для мужчин и женщин отмечается низкий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний.

3.6. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации ЛВП-холестерина у обследуемого контингента людей.

* по ГОСТ Р 51352-2013.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Реагент 1 содержит N,N-бис-(4сульфобутирил)-m-толуидин, реагент 2 – 4-аминоантипирин. При работе с этими реагентами следует избегать попадания этих растворов на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и методических указаниях МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

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 гепатита или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество анализа, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

4.8. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Биохимический анализатор (длина волны 600 (570-630 нм), кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм);
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 6, 200 и 600 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- таймер;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови без следов гемолиза или гепаринизированная плазма крови. Не использовать цитрат в качестве антикоагулянта.

Образцы сыворотки, плазмы крови можно хранить при температуре от 18 до 25 °С не более 2 суток; при температуре от 2 до 8 °С не более 7 суток; при температуре минус 20 °С и ниже не более 3 месяцев.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1. Реагенты готовы к использованию.

Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до

8 °С не более 8 недель в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

7.2. Приготовление калибратора.

К содержимому флакона с калибратором добавить 1,0 мл дистиллированной воды. Растворить при осторожном перемешивании вручную в течение 30 мин. Избегать вспенивания..

Приготовленный калибратор можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 2 недель или при температуре минус 20 °С не более 3 месяцев в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

7.3. Перед началом работы реагенты, кюветы биохимического анализатора нагреть до температуры $37 \pm 0,5$ °С.

7.4. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мкл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Реагент 1	600	600	600
Калибратор	—	6	—
Сыворотка, плазма крови	6	—	—
Пробы перемешать и инкубировать 5 мин при 37 °С. Измерить оптическую плотность растворов опытной ($E_{оп.1}$) и калибровочной проб ($E_{кал.1}$) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 600 (570-630) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя не менее 5 мм.			
Реагент 2	200	200	200
Пробы тщательно перемешать и инкубировать 5 мин при 37 °С. Измерить оптическую плотность растворов опытной ($E_{оп.2}$) и калибровочной проб ($E_{кал.2}$) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 600 (570-630) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя не менее 5 мм.			

8. РАСЧЕТЫ

Рассчитать концентрацию ЛВП-холестерина в сыворотке, плазме крови (C , ммоль/л) по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{оп}}{\Delta E_{кал}} \times C_{кал},$$

где: $\Delta E_{оп}$ – разность изменения оптических плотностей второго и первого измерения опытных проб ($E_{оп.2} - E_{оп.1}$), ед опт. плотн.;

$\Delta E_{кал}$ – разность изменения оптических плотностей второго и первого измерения калибровочных проб ($E_{кал.2} - E_{кал.1}$), ед опт. плотн.,

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

9.1. Набор реагентов «ЛВП-Холестерин-Ново-А» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности (18 мес).

9.2. Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование набора при температуре до 25 °С не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

9.2. Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 8 недель в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

9.4. Приготовленный калибратор можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 2 недель или при температуре минус 20 °С не более 3 месяцев в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

9.5. Для проведения анализа использовать негемолизированную сыворотку или гепаринизированную плазму крови.

9.6. Образцы сыворотки, гепаринизированной плазмы крови можно хранить при температуре от 18 до 25 °С не более 2 суток; при температуре от 2 до 8 °С не более 7 суток; при температуре минус 20 °С и ниже не более 3 месяцев.

9.7. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным материалам, аттестованным данным методом.

9.8. 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.

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

9.10. Не допускается применение серии набора по истечении срока ее годности.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируется в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функцио-

нальные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «ЛВП-Холестерин-Ново-А», следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64, 227-75-50, тел./факс (383) 363-13-46

Вед. научный сотрудник
ЗАО «Вектор-Бест»

Т.И. Суменко

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

Г.Е. Яковлева

Проректор по лечебной работе
ГБОУ ВПО НГМУ
Минздрава России
д.м.н., профессор



Е.Л. Потеряева

« 20 » 11 2015 г.

Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 7 лис. ов.
Зав. канцелярией ГБОУ ВПО НГМУ
Минздрава России

 Долгова С.С.
"20" 11 201 5 г.