

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусаинов

«27» 10 2015 г.



ИНСТРУКЦИЯ

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности в сыворотке крови прямым методом «ЛНП-Холестерин-Ново-А» (далее по тексту – набор) предназначен для количественного определения содержания холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛНП) в сыворотке 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 ЛНП-холестерина (вариант 2, без калибратора).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Прямое определение концентрации ЛНП-холестерина в сыворотке крови, без дополнительной подготовки или центрифугирования образца заключается в следующем:

При добавлении реагента 1 холестерин всех фракций липопротеидов (хиломикронов, ЛВП, ЛОНП), кроме ЛНП, солубилизируется детергентом и под действием ферментов (ХЭ, ХОД) полностью гидролизуются и окисляются до неокрашенного продукта. Образующаяся

Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой и научным сотрудником С.А. Дегтевой.

при этом перекись водорода разрушается каталазой.

При добавлении реагента 2 каталаза инактивируется азидом натрия, а оставшийся ЛНП-холестерин переводится в растворимую фазу и под действием ферментов в присутствии хромогенного субстрата образует окрашенный продукт. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности и определяется фотометрически при длине волны 600 (546-630) нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

– реагент 1: буфер Гуда, 0,05 моль/л; холестеринэстераза, 380 Е/л; холестериноксидаза, 380 Е/л; каталаза, 400 Е/мл; N-(2-гидрокси-3-сульфопропил)-3,5-диметоксианилина натриевая соль, 0,45 ммоль/л; готовый к использованию – 3 флакона (по 20 мл) (вариант 1); 4 флакона (по 45 мл) (вариант 2);

– реагент 2: буфер Гуда, 0,05 моль/л; пероксидаза, 1000 Е/л; 4-аминоантипирин, 1,0 ммоль/л; натрия азид, 0,09%; готовый к использованию – 1 флакон (20 мл) (вариант 1); 4 флакона (по 15 мл) (вариант 2);

– калибратор на основе сыворотки крови человека с концентрацией ЛНП-холестерина 2,38 ммоль/л, аттестованный относительно сертифицированного референсного материала NIST SRM 1951с; концентрация ЛНП-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 ЛНП-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 ЛНП-холестерина от теоретического значения в рабочих калибраторах производителя с концентрациями ЛНП-холестерина 0,1; 2,0; 10,0; 25,9 ммоль/л,%. Процент «линейности» составляет 95-105%.

3.3.* Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – отклонение определяемого значения концентрации ЛНП-холестерина от расчетного в пробе, полученной путем смешения равных объемов рабочих калибраторов производителей с концентрациями ЛНП-холестерина 2,0 и 10,0 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 исполь-

зовать рабочий калибратор производителя с концентрацией ЛНП-холестерина 2,0 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 ЛНП-холестерина 2,0 ммоль/л. Не превышает 5%.

3.5. Нормальные величины концентрации ЛНП-холестерина.

- норма < 3,37 ммоль/л;
- группа риска 3,37-4,15 ммоль/л;
- патология > 4,15 ммоль/л.

3.6. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации ЛНП-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-(2-гидрокси-3-сульфопропил)-3,5-диметоксианилин, а реагент 2 – 4-аминоантипирин, натрия азид. 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 клиничко-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. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Биохимический анализатор (длина волны 600 (546-630) нм, кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм);
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 8, 200 и 600 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- таймер;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови человека.

Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре от 18 до 25 °С не более 1 суток; при температуре от 2 до 8 °С не более 7 суток; при температуре минус 20 °С и ниже не более 3 месяцев. Допускается однократное замораживание.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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 4 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. При измерении оптической плотности постоянно поддерживать температуру $37 \pm 0,2$ °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	–	8	–
Сыворотка крови	8	–	–
Пробы перемешать и инкубировать 5 мин при 37 °С.			
Реагент 2	200	200	200
Пробы тщательно перемешать и инкубировать 5 мин при 37 °С.			

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить оптическую плотность растворов опытной ($E_{оп.}$) и калибровочной проб ($E_{кал.}$) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 600 (546-630) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя не менее 5 мм.

9. РАСЧЕТЫ

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

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

где: $E_{оп.}$ – оптическая плотность раствора опытной пробы;

$E_{кал.}$ – оптическая плотность калибровочной пробы;

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

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ЛНП-Холестерин-Ново-А» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности (18 мес). 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 при температуре до 25 °С не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Реагент 1 и реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 4 недель в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте.

10.3. 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.

10.4. Для проведения анализа использовать негемолизированную сыворотку крови.

10.5. Образцы сыворотки, плазмы крови можно хранить при температуре от 18 до 25 °С не более 1 суток; при температуре от 2 до 8 °С не более 7 суток; при температуре минус 20 °С и ниже не более 3 месяцев.

10.6. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным материалам, 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.

10.9. Не допускается применение серии наборов по истечении срока ее годности.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

Безопасность и качество изделия гарантируется в течение всего срока годности.

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

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные 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 «ЛНП-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

Научный сотрудник
ЗАО «Вектор-Бест»

 С.А. Дегтева

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.И. Потеряева

«27» 10 2015 г.



М.П.