

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



А.Г. Плехов

« 01 »

2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
активности холинэстеразы в сыворотке (плазме) крови
кинетическим колориметрическим методом

**«ХОЛИНЭСТЕРАЗА-ВИТАЛ»,
ТУ 21.20.23-093-94568735-2021**

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения активности холинэстеразы в сыворотке (плазме) крови кинетическим колориметрическим методом «ХОЛИНЭСТЕРАЗА-ВИТАЛ» (далее по тексту - набор) предназначен для количественного определения активности холинэстеразы в сыворотке (плазме) крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор предназначен для лабораторной *in vitro* диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора – определение активности холинэстеразы в сыворотке (плазме) крови с целью оценки синтетической функции печени, диагностики и контроля терапии заболеваний печени.

1.3. Набор может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Целевой анализ. Холинэстераза – фермент, катализирующий реакцию гидролиза различных эфиров холина. Выделяют два типа фермента, которые различаются субстратом и локализацией. Ацетилхолинэстераза гидролизует ацетилхолин, участвует в проведении нервных импульсов, содержится преимущественно в клетках центральной нервной системы, нервно-мышечных синапсах скелетной мускулатуры, эритроцитах. S-псевдохолинэстераза (бутирилхолинэстераза) участвует в метаболизме токсинов, присутствует в сыворотке (плазме) крови, клетках печени и гладкой мускулатуры, определение активности данной формы фермента применяется в лабораторной диагностике.

Снижение активности холинэстеразы в сыворотке (плазме) крови наблюдается при заболеваниях печени, сопровождающихся дистрофическими и цитолитическими изменениями (гепатит, цирроз), при поражениях соединительной ткани.

Повышение активности холинэстеразы в сыворотке (плазме) крови наблюдается в случае нефротического синдрома (нефроз), нарушение обмена липопротеинов (гиперлиппротеинемия, ожирение).

1.5. Варианты исполнения:

Комплект 1:

- реагент 1 – 1 флакон (40 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (10 мл).

Комплект 2:

- реагент 1 – 1 флакон (40 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (10 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 3:

- реагент 1 – 1 флакон (100 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (25 мл).

Комплект 4:

- реагент 1 – 1 флакон (100 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (25 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 5:

- реагент 1 – 1 флакон (39 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (11 мл).

Комплект 6:

- реагент 1 – 2 флакона (по 39 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 11 мл).

Комплект 7:

- реагент 1 – 2 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 6 мл).

Комплект 8:

- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 6 мл).

Комплект 9:

- реагент 1 – 1 флакон (51 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (15 мл).

Комплект 10:

- реагент 1 – 3 флакона (по 51 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 15 мл).

Комплект 11:

- реагент 1 – 1 флакон (72 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (20 мл).

Комплект 12:

- реагент 1 – 3 флакона (по 72 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 20 мл).

Комплект 13:

- реагент 1 – 2 флакона (по 70 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 19 мл).

Комплект 14:

- реагент 1 – 4 флакона (по 70 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 19 мл).

Комплект 15:

- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),

- реагент 2 – 1 флакон (20 мл).

Комплект 16:

- реагент 1 – 3 флакона (по 40 мл),

- реагент 2 – 3 флакона (по 11 мл).

Комплект 17:

- реагент 1 – 4 флакона (по 40 мл),

- реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл).

Комплект 18:

- реагент 1 – 6 флаконов (по 40 мл),

- реагент 2 – 3 флакона (по 22 мл).

Варианты исполнения рассчитаны* на:

Комплект 1 – 80 определений,

Комплект 2 – 80 определений,

Комплект 3 – 200 определений,

Комплект 4 – 200 определений,

Комплект 5 – 181 определение,

Комплект 6 – 362 определения,

Комплект 7 – 176 определений,

Комплект 8 – 352 определения,

Комплект 9 – 233 определения,

Комплект 10 – 699 определений,

Комплект 11 – 343 определения,

Комплект 12 – 1029 определений,

Комплект 13 – 660 определений,

Комплект 14 – 1320 определений,

Комплект 15 – 316 определений,

Комплект 16 – 498 определений,

Комплект 17 – 632 определения,

Комплект 18 – 1020 определений.

*В зависимости от параметров для ввода, указанных в руководстве пользователя для анализатора.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Холинэстераза катализирует реакцию гидролиза бутирилтиохолина с образованием тиохолина и масляной кислоты. Тиохолин восстанавливает гексацианоферрат (III) калия до гексацианоферрата (II). Скорость восстановления окрашенного в желтый цвет гексацианоферрата (III) калия до бесцветного гексацианоферрата (II) пропорциональна активности холинэстеразы в анализируемом образце и измеряется фотометрически по уменьшению оптической плотности при длине волны 405 (410) нм.

3. СОСТАВ НАБОРА

- реагент 1: натрия фосфат двузамещенный, 100 ммоль/л; калия гексацианоферрат (III), 5 ммоль/л; готов к использованию:

- комплект 1 - 1 флакон (40 мл),

- комплект 2 - 1 флакон (40 мл),

- комплект 3 - 1 флакон (100 мл),

- комплект 4 - 1 флакон (100 мл),

- комплект 5 - 1 флакон (39 мл),

- комплект 6 - 2 флакона (по 39 мл),

- комплект 7 - 2 флакона (по 20 мл),

- комплект 8 - 4 флакона (по 20 мл),
 - комплект 9 - 1 флакон (51 мл),
 - комплект 10 - 3 флакона (по 51 мл),
 - комплект 11 - 1 флакон (72 мл),
 - комплект 12 - 3 флакона (по 72 мл),
 - комплект 13 - 2 флакона (по 70 мл),
 - комплект 14 - 4 флакона (по 70 мл),
 - комплект 15 - 2 флакона (по 40 мл),
 - комплект 16 - 3 флакона (по 40 мл),
 - комплект 17 - 4 флакона (по 40 мл),
 - комплект 18 - 6 флаконов (по 40 мл).
- реагент 2: натрия фосфат двузамещенный, 100 ммоль/л; S-бутирилтиохолин йодид, 10 ммоль/л; тритон X-100, 2 г/л; готов к использованию:

- комплект 1 - 1 флакон (10 мл),
- комплект 2 - 1 флакон (10 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (25 мл),
- комплект 4 - 1 флакон (25 мл),
- комплект 5 - 1 флакон (11 мл),
- комплект 6 - 2 флакона (по 11 мл),
- комплект 7 - 2 флакона (по 6 мл),
- комплект 8 - 4 флакона (по 6 мл),
- комплект 9 - 1 флакон (15 мл),
- комплект 10 - 3 флакона (по 15 мл),
- комплект 11 - 1 флакон (20 мл),
- комплект 12 - 3 флакона (по 20 мл),
- комплект 13 - 2 флакона (по 19 мл),
- комплект 14 - 4 флакона (по 19 мл),
- комплект 15 - 1 флакон (20 мл),
- комплект 16 - 3 флакона (по 11 мл),
- комплект 17 - 2 флакона (по 20 мл),
- комплект 18 - 3 флакона (по 22 мл).

- калибратор: калибровочный образец холинэстеразы, лиофилизированный, содержащий после растворения в 3,0 мл дистиллированной воды бычий сывороточный альбумин, 70 г/л; бутирилхолинэстеразу из сыворотки крови лошади; точная активность указана в паспорте на набор и на этикетке флакона; аттестован по первичному стандарту производителя:

- комплект 2 - 1 флакон,
- комплект 4 - 1 флакон.

В состав комплектов 1, 3, 5-18 набора калибратор не входит. При постановке анализа могут быть использованы калибраторы, аттестованные данным методом и зарегистрированные в установленном порядке.

Примечания:

1. Материалы животного происхождения, входящие в состав калибратора, не представляют опасности для человека, материалов человеческого происхождения не содержится.

2. Метрологическая прослеживаемость калибратора производится с использованием первичного стандарта производителя, содержащего холинэстеразу, активность которой рассчитана с применением коэффициента молярной экстинкции калия гексацианоферрата (III) при длине волны 410 нм. Метрологическая прослеживаемость калибратора осуществляется путем выполнения протокола переноса калибровки по первичному стандарту производителя с целью приписывания целевого значения калибратору.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения – в диапазоне 250-25000 Е/л.

Чувствительность – 200 Е/л.

Коэффициент вариации – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора: такие потенциально интерферирующие вещества, как гемоглобин до концентрации 11,9 г/л, билирубин до концентрации 750 мкмоль/л, триглицериды до концентрации 40 ммоль/л, аскорбиновая кислота до концентрации 80 мг/дл и общий белок до концентрации 110 г/л не влияют на правильность определения активности холинэстеразы.

Качество набора может проверяться по контрольным материалам, аттестованным данным методом и зарегистрированным в установленном порядке.

Нормальные величины активности холинэстеразы в сыворотке (плазме) крови человека при температуре измерения +37°C составляют 4000-11500 Е/л.

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

Аналитические характеристики набора установлены в соответствии с ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

5. ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови или плазма крови (ЭДТА, гепарин).

Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови.

Образцы можно хранить в темном месте не более 5 суток при температуре +2-8°C или не более 1 месяца при температуре -18°C. Повторное замораживание образцов не допускается. Пробирки с образцами следует плотно закрывать.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

При работе с набором следует соблюдать осторожность и не допускать попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые. При попадании в глаза, на кожу и слизистые следует немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л воды, вызвать рвоту, обратиться к врачу.

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 и СП 1.3.2322-08.

При работе с набором и образцами сыворотки (плазмы) крови человека следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, рассматривать образцы как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- спектрофотометр с термостатируемой кюветой с длиной оптического пути 10 мм, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения кинетического измерения при длине волны 405 (410) нм и температуре инкубации +37°C;
- термостат, обеспечивающий температуру 37±1°C;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- пробирки вместимостью 1-2 мл;
- дистиллированная вода;

- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- калибратор холинэстеразы (для применения в комплектах 1, 3, 5-18);
- перчатки резиновые или пластиковые.

Примечание. Использование набора на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Подготовка реагентов

Реагенты 1, 2 готовы к использованию.

Подготовка калибратора:

- для комплектов 2, 4:

Во флакон с лиофилизированным калибратором внести 3,0 мл дистиллированной воды комнатной температуры (+18-25°C) и легким вращением флакона обводнить весь сухой материал. Аккуратно перемешать содержимое флакона, не встряхивать, не допускать образования пены и потери материала. После растворения выдержать 30 минут при комнатной температуре (+18-25°C). Точная активность холинэстеразы в калибраторе указана в паспорте на набор и на этикетке флакона.

- для комплектов 1, 3, 5-18:

Подготовка калибратора и его хранение осуществляется в соответствии с инструкцией по применению калибратора.

Непосредственно перед использованием нагреть кювету измерительного прибора, реагенты 1, 2, анализируемые образцы и калибратор до температуры +37°C.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 405 (410) нм;

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +37°C;

Фотометрирование: против контрольной (холостой) пробы.

Отмерить и внести в пробирки, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Реагент 1	0,5	0,5	0,5
Образец	0,01	-	-
Калибратор	-	0,01	-
Дистиллированная вода	-	-	0,01
Пробы тщательно перемешать и одновременно включить секундомер, инкубировать 3 минуты			
Реагент 2	0,125	0,125	0,125

Пробы тщательно перемешать, инкубировать 2 минуты (точно!), измерить оптическую плотность (E) опытных и калибровочных проб против контрольной (холостой) пробы. Замер оптической плотности повторить 3 раза с интервалом 1 минуту.

Примечание. Расход реагентов 1, 2 и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы.

10. РАСЧЕТЫ

Изменение оптической плотности за 1 минуту ($\Delta E / \text{мин}$) определить по формуле:

$$\Delta E / \text{мин} = \frac{\Delta E_n}{t},$$

где: ΔE_n – изменение оптической плотности пробы, ед. опт. плотн.;
 t – интервал времени между определениями, мин.

Активность холинэстеразы (A) в анализируемом образце сыворотки (плазмы) крови определить по формуле:

$$A = \frac{(\Delta E/\text{мин})_{\text{пробы}}}{(\Delta E/\text{мин})_{\text{кал}}} \times X,$$

где: $(\Delta E/\text{мин})_{\text{пробы}}$ – изменение оптической плотности опытной пробы за 1 минуту;

$(\Delta E/\text{мин})_{\text{кал}}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы за 1 минуту;

X – активность холинэстеразы в калибраторе, Е/л.

Примечания.

1. Коэффициент пересчета единиц измерения 1 Е/л = 16,67 нмоль/(схл).

2. Если значение активности холинэстеразы в анализируемой пробе превышает 25000 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя и его транспортирование всеми видами крытого транспорта допускается при температуре +2-8°C в течение всего срока годности, при температуре до +25°C – не более 5 суток, замораживание компонентов набора не допускается.

Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Срок годности набора – 24 месяца.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 1 месяца.

Калибратор после растворения можно хранить при температуре +2-8°C не более 3 суток, при температуре -18°C – не более 1 месяца. Повторное замораживание не допускается. Время полного растворения калибратора – не более 10 минут.

Реагенты 1 и 2 можно хранить на борту анализатора не более 1 месяца при условии круглосуточного охлаждения. Калибровку следует проводить по мере необходимости.

Необходимо обеспечивать достаточную герметичность флаконов!

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа могут привести к получению неверных результатов исследования.

До окончания срока годности набора, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических и диагностических характеристик набора заявленным. Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности. Техническое обслуживание и ремонт медицинского изделия для диагностики *in vitro* не применяются.

Производитель произвел верификацию, валидацию и оценку стабильности набора в соответствии с ГОСТ Р ИСО 23640-2015. Результаты исследований, отраженные в соответствующих протоколах, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

Оценка рисков, связанных с возможным изменением параметров проведения анализа (изменение температуры и времени инкубации), проводилась в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 в отношении отходов класса «Б».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

15. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться к производителю - в Акционерное Общество "Витал Девелопмент Корпорэйшн" (АО "Витал Девелопмент Корпорэйшн") по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 702-10-86, 8(800) 200-23-24

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«23» сентября 2024 год

Ген. Директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

Варнавичус Т.К.

ПРОШИТО

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего

8 листа(ов)

Ген. директор

Плехов А.Г.