

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2009 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО "Ольвекс Диагностикум"



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации
холестерина липопротеинов высокой плотности в сыворотке и плазме крови
(ХОЛЕСТЕРИН ЛПВП-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор «ХОЛЕСТЕРИН ЛПВП-ОЛЬВЕКС» предназначен для количественного определения концентрации холестерина липопротеинов высокой плотности в сыворотке и плазме крови человека в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 333 определений при расходе 0,3 мл осаждающего реагента на один анализ.

Набор может выпускаться с калибратором – кат. № 013.004 и без калибратора – кат. № 013.005.

Для проведения анализа дополнительно требуется набор реагентов для определения концентрации общего холестерина в сыворотке крови человека энзиматическим методом «ХОЛЕСТЕРИН-ОЛЬВЕКС» кат. №№ 013.012, 013.022 или набор реагентов для определения концентрации общего холестерина в сыворотке и плазме крови «ХОЛЕСТЕРИН-1-ОЛЬВЕКС» кат. №№ 013.001, 013.011, 013.021.

Принцип метода

Хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеины низкой плотности (ЛПНП) осаждаются при добавлении к образцу фосфорнофольфрамовой кислоты в присутствии ионов Mg^{2+} . После центрифугирования в супернатанте остается только

холестерин ЛПВП, концентрация которого определяется так же, как концентрация общего холестерина.

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- осаждающий реагент, содержащий фосфорновольфрамную кислоту, 2,39 г/л; магния хлорид 6-водный, 37,5 ммоль/л; готов к применению – 1 флакон (100 мл);
- калибратор, содержащий холестерин, 1,29 ммоль/л; 1-пропанол, 50 мл/л; полидока-
нол, 100 г/л; азид натрия, 0,5 г/л; готов к применению - 1 флакон (5,0 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения концентрации холестерина ЛПВП – в диапазоне от 0,25 до 3,5 ммоль/л, отклонение от линейности – не более 5%.

Чувствительность определения -- не более 0,2 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

Окраска стабильна в течение 2 часов.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток, аттестованных данным методом.

Нормальные значения содержания холестерина ЛПВП у мужчин – 1,42 ммоль/л, у женщин – 1,68 ммоль/л.

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

Анализируемые образцы

Сыворотка крови, ЭДТА или гепаринизированная плазма крови без следов гемолиза. Отделить от форменных элементов немедленно! Проба стабильна 7 дней при температуре хранения +2 – 8°C.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав калибратора входит токсичный компонент – азид натрия. Следует избегать его попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

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.).

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирусы гепатитов или возбудителей других инфекций.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 500 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 490 – 520 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- пипетки, позволяющие дозировать объемы жидкости 0,15 мл; 0,2 мл; 0,3 мл; 1,0 мл и 2,0 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0 – 10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 4000 g;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Примечание: Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

Подготовка к анализу

Осаждающий реагент и калибратор готовы к использованию.

Калибратор, входящий в состав наборов «ХОЛЕСТЕРИН-ОЛЬВЕКС» кат. №№ 013.012, 013.022 и «ХОЛЕСТЕРИН-1-ОЛЬВЕКС» кат. №№ 013.001, 013.011, 013.021,

содержит холестерин в концентрации 5,17 ммоль/л. Для определения концентрации холестерина ЛПВП его необходимо развести раствором 0,9 % натрия хлорида (физиологический раствор) в соотношении 1:3. Концентрация холестерина в полученном калибровочном растворе будет составлять 1,29 ммоль/л.

Приготовить рабочий реагент для определения холестерина ЛПВП согласно инструкции к наборам реагентов «ХОЛЕСТЕРИН-ОЛЬВЕКС» кат. №№ 013.012, 013.022 или ХОЛЕСТЕРИН-1-ОЛЬВЕКС кат. №№ 013.001, 013.011, 013.021.

Проведение анализа

Для осаждения хиломикронов, ЛПОНП и ЛПНП подготовить пробы в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Осаждающий реагент, мл	0,3	0,3	0,3
Сыворотка или плазма крови, мл	0,15	—	—
Калибратор, мл	—	0,15	—
Вода дистиллированная, мл	—	—	0,15

Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 10 минут при комнатной температуре (+18 – 25°C), после чего центрифугировать пробы при 4000 g в течение 10 минут при комнатной температуре. Для определения концентрации холестерина ЛПВП использовать прозрачную надосадочную жидкость (супернатант). Его определение необходимо провести в течение часа.

Для определения концентрации холестерина ЛПВП пробы подготовить в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент, мл	2,0	2,0	2,0
Надосадочная жидкость (супернатант), мл	0,2	0,2	0,2

Пробы тщательно перемешать и выдержать в течение 10 минут в термостате при температуре +37°C. Измерить оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 500 (490-520) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Окраска растворов стабильна в течение 2 часов после окончания инкубации при хранении проб в защищенном от света месте при комнатной температуре (+18 – 25°C).

Расчеты

Концентрацию холестерина ЛПВП в сыворотке или плазме крови (С, ммоль/л) рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{np}}{E_{kal}} \times 1,29 ,$$

где: E_n - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

E_{kal} - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

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

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор «ХОЛЕСТЕРИН ЛПВП-ОЛЬВЕКС» кат. № 013.004 должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2 – 8°C в защищенном от света месте в течение всего срока годности.

Набор «ХОЛЕСТЕРИН ЛПВП-ОЛЬВЕКС» кат. № 013.005 должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре в защищенном от света месте в течение всего срока годности.

Срок годности набора «ХОЛЕСТЕРИН ЛПВП-ОЛЬВЕКС» кат. № 013.004 и кат. № 013.005 – 12 месяцев.

Осаждающий реагент после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не более 12 месяцев.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2 – 8°C в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

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

По вопросам, касающимся качества набора «ХОЛЕСТЕРИН ЛПВП-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу: 195197, Санкт-Петербург,

пр. Обуховской обороны, 70. Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02; Факс: (812) 567-84-29
и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Рос-
здравнадзора по адресу: 117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.
Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор производства
ООО «Ольвекс Диагностикум»



Кузьменков Ю.М.

«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики РМАПО
д.м.н., профессор



Долгов В.В.

Подпись В.В. Долгова
удостоверяю: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: Мельникова Г.А.