

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2012 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Президент ЗАО «ЭКОлаб»



С. Г. Марданлы

2012 г.

**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ
ФЕРМЕНТАТИВНЫМ МЕТОДОМ**

(«Холестерин-ЖС»)

1. Назначение

Набор предназначен для количественного определения содержания общего холестерина в сыворотке и плазме крови человека в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор выпускается в трех вариантах комплектации и рассчитан на проведение 150, 300 и 600 определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на один анализ.

2. Характеристика

2.1. Принцип действия

При гидролизе эфиров холестерина холестеролэстеразой образуется свободный холестерин. Образовавшийся и имеющийся в пробе свободный холестерин под действием холестеролоксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием эквимольного количества перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода, 4-аминоантипирин и фенол образуют окрашенный продукт, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию холестерина в анализируемой пробе и определяется фотометрически при длине волны 500 (490-520) нм.

2.2. Состав набора

- Реагент 1 - буферно-ферментный раствор - 2 флакона (по 50 мл) или 2 флакона (по 100 мл) или 4 флакона (по 100 мл).
- Реагент 2 - раствор хромогена - 2 флакона (по 25 мл) или 2 флакона (по 50 мл) или 4 флакона (по 50 мл).
- Калибратор - калибровочный раствор холестерина, 5,0 ммоль/л - 1 флакон (3,0 мл) или 1 флакон (3,0 мл) или 1 флакон (5,0 мл).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Линейность в диапазоне концентраций от 1,5 ммоль/л до 20 ммоль/л; отклонение - не более 5,0 %.

Чувствительность - не более 1,0 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определения - не более 5,0 %.

Качество набора может быть проверено по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные значения:

в сыворотке и плазме крови 2,9 - 5,2 ммоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин.

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора - класс 2а.

Реагенты 1,2 содержат ядовитое вещество - натрия азид. Реагент 1 содержит токсичное вещество - фенол. При работе с ними следует применять индивидуальные средства защиты. В случае попадания раствора на кожу и слизистые необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил 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 следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- фотометрическое оборудование, включая биохимические полуавтоматические и автоматические анализаторы, длина волны 500 (490-520) нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;

- таймер;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- пробирки вместимостью 10-12 мл;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01 мл и 1,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА плазма крови.

7. Подготовка к анализу

7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов

Смешать Реагент 1 с Реагентом 2 в соотношении 2:1.

Рабочий раствор реагентов хранить при температуре $(2-8) ^\circ\text{C}$ в темном месте в плотно закрытом флаконе не более 1 месяца.

Внимание! Розовая окраска рабочего раствора реагентов с величиной оптической плотности до 0,2 ед. опт. пл., измеренной против воды дистиллированной при длине волны 500 нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см не влияет на правильность определения холестерина в исследуемом образце.

Калибратор готов к применению. После вскрытия флакона хранить при температуре $(2-8) ^\circ\text{C}$ в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

7.2. Проведение анализа

Компоненты и анализируемые пробы отмерить в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Рабочий раствор реагентов	1,0	1,0	1,0
Сыворотка (плазма) крови	-	-	0,01
Калибратор	-	0,01	-
Вода дистиллированная	0,01	-	-

Содержимое пробирок тщательно перемешать круговыми движениями, избегая пенообразования, выдержать при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 5-10 мин. Раствор следует предохранять от действия прямого света. Измерить оптическую плотность калибровочной (E_k) и опытной (E_{on}) проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 500 (490-520) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см. Окраска стабильна в течение 1 часа.

8. Регистрация результатов

Длина волны: 500 (490-520) нм;

Длина оптического пути: 1,0 см;

Температура анализа: $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;

Измерение: против холостой пробы.

9. Учет результатов реакции

Содержание холестерина (С, ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{on}}{E_k} \times 5,0,$$

где: E_{on} - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. пл.;

E_k - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. пл.;

5,0 - концентрация холестерина в калибраторе, ммоль/л.

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Срок годности набора - 1 год.

Рабочий раствор реагентов хранить при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в темном месте в плотно закрытом флаконе не более 1 месяца.

Калибратор после вскрытия флакона хранить при температуре $(2-8)^\circ\text{C}$ в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

При содержании холестерина в исследуемом образце выше 20 ммоль/л, образец необходимо развести физиологическим раствором, анализ повторить и полученный результат умножить на разведение.

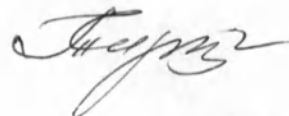
Гемоглобин в концентрации до 2,0 г/л и билирубин до 85,5 мкмоль/л не влияют на точность определения холестерина.

При подготовке посуды для анализа нельзя использовать моющие растворы, содержащие перекись водорода и диэтиловый эфир.

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

По вопросам, касающимся качества набора («Холестерин-ЖС») следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО «ЭКОлаб»; тел/факс (49643) 3-30-93, 3-30-85 - отдел сбыта.

Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»



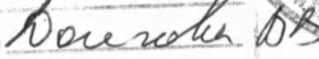
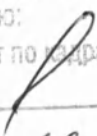
Т. М. Сиренко

СОГЛАСОВАНО:

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО
Минздравсоцразвития России,
д.м.н., профессор




В. В. Долгов

Подпись	
удостоверяю:	
Специалист по	РМАПО
Подпись	
10	10 20 10