

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПОПРОТЕИДОВ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ (ОСАЖДАЮЩИЙ РЕАГЕНТ С КАЛИБРАТОРОМ) (КАТ.№ В-12471)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для определения содержания холестерина липопротеидов высокой плотности в сыворотке и плазме крови в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 2000 определений при расходе реагента 1 0,05 мл на 1 определение.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Липопротеиды низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП) осаждаются в присутствии фосфорновольфрамовой кислоты и хлорида магния и удаляются при центрифугировании. Холестерин липопротеидов высокой плотности (ЛПВП-холестерин) в супернатанте определяется с помощью набора "КлиниТест-Холестерин" производства НПЦ "Эко-Сервис" или аналогичного.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). Осаждающий реагент:

- фосфорновольфрамовая кислота – 14 ммоль/л; хлорид магния – 50 ммоль/л.....100 мл
- Калибратор холестерина – 1,29 ммоль/л 3 мл

Примечание: при хранении в Реагенте 1 может выпадать осадок, что не влияет на степень осаждения ЛПНП и ЛПОНП. В этом случае для осаждения следует пользоваться надосадочной жидкостью.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Чувствительность** – не более 0,5 ммоль/л.
- Линейность** – от 1 до 3 ммоль/л с отклонением не более 7%.
- Коэффициент вариации** – не более 7%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки. При использовании набора следует соблюдать правила

техники безопасности при работе с едкими и ядовитыми веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, анализаторы открытого типа различных производителей, центрифуга, дозаторы, позволяющие отбирать объём 0,05 мл, 0,1 мл и 1,0 мл, секундомер, пробирки вместимостью 5-10 мл, штатив, дистиллированная вода.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, ЭДТА-плазма. ЛПВП в сыворотке и плазме стабилен 1-3 дня при 4°[1].

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Осаждение ЛПНП и ЛПОНП. Температура проведения реакции 18-25°С.

Схема определения

Раствор	Опытная проба
Образец, мл	0,50
Реагент 1, мл	0,05

Тщательно перемешать, выдержать при температуре 18-25°С в течение 10 мин., центрифугировать при 4000 об/мин. в течение 10 мин. или при 10000 об/мин. в течение 2 мин. и определить содержание холестерина в супернатанте.

Супернатант должен быть прозрачным.

2. Определение ЛПВП-холестерина
Длина волны 500 (490-520) нм.
Кювета с длиной оптического пути 10 мм.
Температура проведения реакции 37°С.
Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

КлиниТест-ЛВП-Холестерин

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холестериновая проба
Супернатант, мл	0,1	–	–
Рабочий реактив для определения холестерина, мл	1,00	1,00	1,00
Дистилл. вода, мл	–	–	0,1
Калибратор, мл	–	0,1	–

Пробы тщательно перемешать, избегая пенообразования, выдержать при температуре 37°C в темноте в течение 10 мин. и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.}$) калибровочной пробы ($E_{кал.}$) относительно холостой пробы.

Окраска стабильна не менее 2 часов при содержании проб в темноте.

РАСЧЁТ

Содержание холестерина C рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{обр.}}{E_{кал.}} \cdot 1,29 \cdot 1,1 \text{ ммоль/л,}$$

где **1,29** – концентрация холестерина в калибраторе, ммоль/л;

1,1 – коэффициент разведения сыворотки осаждающим реагентом.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При концентрации триглицеридов в образце более 5 ммоль/л результаты определения ЛПВП-холестерина будут некорректны.
2. При содержании ЛПВП-холестерина в образце выше 3 ммоль/л образец развести физраствором. Анализ повторить, результат умножить на коэффициент разведения.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно.

Мужчины	0,90-1,80 ммоль/л
Женщины	1,00-2,10 ммоль/л

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	500 (490-520)
Измерение против	Рабочего реактива
Температура реакции	37°C
Единица измерения	ммоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, ммоль/л	1,29
Соотношение реагент/проба	100:1
Время реакции, сек.	600
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	0,15
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0
Границы линейности, ммоль/л	1-3
Максимум нормы, ммоль/л	2,1
Минимум нормы, ммоль/л	0,9

*В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-ЛВП-Холестерин» на вашем анализаторе.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 18-25°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается однократное замораживание. Реагент 1 после вскрытия флакона можно хранить при температуре 18-25°C в течение всего срока годности набора. Калибратор после вскрытия допускается хранить при 2-8°C не более 3 месяцев при условии достаточной герметичности флакона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. проф. Н.У. Тица, М., 1997, "Лабинформ".