

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ (КАТ.№№ В-12450, В-12451, В-12452, В-12453, В-12454, В-12455, В-12456, В-12457, В-12458, В-12459, В-12460)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 22.07.2019 г. № 5438
РУ № РЗН 2019/8647 от 22.07.2019 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для колориметрического определения содержания общего холестерина ферментативным методом в сыворотке и плазме крови в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 50, 100, 200, 250, 400, 500, 600 и 1000 определений при расходе реагента 1 мл на 1 определение.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Под действием ферментов холестеролэстеразы и холестеролидазы эфиры холестерина гидролизуются до жирных кислот и свободного холестерина, который окисляется с выделением эквивалентного количества перекиси водорода. Перекись водорода в присутствии пероксидазы реагирует с 4-аминоантипирином и 4-гидроксibenзолсульфо кислотой с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию холестерина в исследуемой пробе.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). Трис-буфер, рН 7,5 – 100 ммоль/л, холестеролэстераза, холестеролоксидаза, пероксидаза, 4-аминоантипирин, п-фенолсульфокислота натриевая соль, консерванты, стабилизаторы.

Калибратор, 5,17 ммоль/л.

Кат.№ Фасовка

В-12460	1. Р1 1х50 мл + калибратор 1х3 мл
В-12455	2. Р1 1х100 мл + калибратор 1х3 мл
В-12453	3. Р1 2х100 мл + калибратор 1х3 мл
В-12454	4. Р1 2х200 мл + калибратор 1х3 мл
В-12451	5. Р1 4х100 мл + калибратор 1х3 мл
В-12459	6. Р1 5х100 мл + калибратор 1х3 мл
В-12457	7. Р1 6х100 мл + калибратор 2х3 мл
В-12450	8. Р1 1х250 мл + калибратор 1х3 мл
В-12456	9. Р1 2х250 мл + калибратор 1х3 мл
В-12458	10. Р1 4х250 мл + калибратор 1х3 мл
В-12452	11. Р1 1х1000 мл + калибратор 1х3 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 0,5 ммоль/л.

Линейность – от 1 до 25,8 ммоль/л с отклонением не более 5%.

Коэффициент вариации – не более 5%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, анализаторы открытого типа различных изготовителей, термостат, секундомер, дозаторы, позволяющие отбирать объём 0,01 мл и 1,0 мл, пробирки вместимостью 5-10 мл, штатив, дистиллированная вода.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА-плазма.

Холестерин в сыворотке и плазме стабилен при 2-8°C до 7 суток, при -20°C до 3 месяцев и неопределённо долго при -70°C. Избегать повторного замораживания и оттаивания [1].

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 500 (490-540) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 37°C (18-25°C).

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холодная проба
Образец, мл	0,01	–	–
Реагент 1, мл	1,00	1,00	1,00
Дистилл. вода, мл	–	–	0,01
Калибратор, мл	–	0,01	–

Пробы тщательно перемешать. Инкубировать 10 мин. при 37°C или 20 мин. при 18-25°C. Измерить оптическую плотность опытной ($E_{обр.}$) и калибровочной ($E_{кал.}$) проб против холостой пробы.

Окраска растворов стабильна в течение 30 мин.

РАСЧЁТ

Содержание холестерина **C** рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{обр.}}{E_{кал.}} \cdot 5,17 \text{ ммоль/л,}$$

где **5,17** – концентрация холестерина в калибраторе, ммоль/л.

КлиниТест-Холестерин

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	500 (490-540)
Измерение против	Реагента 1
Температура реакции	37°C или 18-25°C
Единица измерения	ммоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, ммоль/л	5,17
Соотношение реагент/проба	100:1
Время реакции, сек	1200 (18-25°C) 600 (37°C)
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	0,2
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0
Границы линейности, ммоль/л	1-25,8
Максимум нормы, ммоль/л	6,7*
Минимум нормы, ммоль/л	3,7*

* Значения нормы следует уточнять с учётом возраста. В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-Холестерин» на вашем анализаторе.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Оптическая плотность реагента 1 против дистиллированной воды при 500 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм не должна превышать 0,2.
2. При содержании холестерина в исследуемом образце выше 25,8 ммоль/л образец развести физиологическим раствором в 2 раза. Измерение повторить, результат умножить на 2.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Сыворотка и плазма крови 3,3 - 5,2 ммоль/л

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Реагент 1 после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2-8°C в тёмном месте в течение всего срока годности набора. Калибратор после вскрытия допускается хранить при 2-8°C не более 3 месяцев при условии достаточной герметичности флакона.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 119-121.