Версия 1-2021

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____А.Г. Плехов

«___» _____2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности в сыворотке (плазме) крови энзиматическим колориметрическим методом с селективной защитой, без осаждения

«LDL-ХОЛЕСТЕРИН-ВИТАЛ»
ТУ 21.20.23-106-94568735-2021

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности в сыворотке (плазме) крови энзиматическим колориметрическим методом с селективной защитой, без осаждения «LDL-ХОЛЕСТЕРИН-ВИТАЛ» (далее по тексту - набор) предназначен для количественного определения концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности (LDL-холестерин) 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 концентрации LDL-холестерина в сыворотке (плазме) крови человека для оценки липидного профиля организма человека, рисков развития атеросклероза и других заболеваний сердечно-сосудистой системы, а также для контроля эффективности гиполипидемической терапии.

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

1.4. Целевой аналит. Липопротеиды низкой плотности (LDL) представляют собой комплекс белков (аполипопротеинов В) и липидов (фосфолипидов, холестерина и его эфиров, триглицеридов); обеспечивают транспорт холестерина из печени в клетки периферических органов; при окислении вызывают развитие воспаления и атеросклеротическое повреждение эндотелия сосудов. Кроме LDL (атерогенной липидной фракции) в периферической крови содержатся липопротеиды высокой плотности (HDL, антиатерогенная липидная фракция), липопротеиды промежуточной плотности (IDL), липопротеиды очень низкой плотности (VLDL) и хиломикроны.

Повышенный уровень LDL-холестерина является прогностическим критерием развития заболеваний сердечно-сосудистой системы (атеросклероз, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда), повреждений сосудов головного мозга

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(инсульт), почек (нефротический синдром), наблюдается при нарушениях липидного обмена (семейная гиперлипидемия), заболеваниях печени (холестаз) и почек (хроническая почечная недостаточность).

Низкий уровень LDL-холестерина обычно коррелирует с малым риском сердечно-сосудистых заболеваний и может наблюдаться при заболеваниях щитовидной железы (гипертиреоз), заболеваниях крови (железодефицитная и B_{12}-дефицитная анемии), онкологических заболеваниях (множественная миелома).

1.5. Варианты исполнения:

Комплект 1:
- реагент 1 – 1 флакон (45 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (15 мл).

Комплект 2:
- реагент 1 – 2 флакона (по 45 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 15 мл).

Комплект 3:
- реагент 1 – 1 флакон (45 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (15 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 4:
- реагент 1 – 2 флакона (по 45 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 15 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 5:
- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 14,5 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 6:
- реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 14,5 мл).

Комплект 7:
- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 7 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 8:
- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 7 мл).

Комплект 9:
- реагент 1 – 3 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 18 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 10:
- реагент 1 – 3 флакона (по 50 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 18 мл).

Комплект 11:
- реагент 1 – 2 флакона (по 64 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 23 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 12:
- реагент 1 – 2 флакона (по 64 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 23 мл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Комплект 13:
- реагент 1 – 1 флакон (40 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (14 мл).
Комплект 14:
- реагент 1 – 3 флакона (по 16 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (16 мл).
Комплект 15:
- реагент 1 – 4 флакона (по 45 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 30 мл).
Варианты исполнения рассчитаны* на:
Комплект 1 – 100 определений,
Комплект 2 – 200 определений,
Комплект 3 – 100 определений,
Комплект 4 – 200 определений,
Комплект 5 – 280 определений,
Комплект 6 – 280 определений,
Комплект 7 – 360 определений,
Комплект 8 – 360 определений,
Комплект 9 – 510 определений,
Комплект 10 – 510 определений,
Комплект 11 – 670 определений,
Комплект 12 – 670 определений,
Комплект 13 – 140 определений,
Комплект 14 – 165 определений,
Комплект 15 – 620 определений.
*В зависимости от параметров для ввода, указанных в руководстве пользователя для анализатора.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ

При добавлении к анализируемому образцу реагента 1, образуется комплекс, который защищает LDL-холестерин от ферментов – холестеринэстеразы и холестериноксидазы, взаимодействующих с остальными фракциями липопротеидов. Образующаяся в ходе реакции перекись водорода разрушается каталазой. При добавлении реагента 2 происходит высвобождение LDL-холестерина из комплекса; натрия азид инактивирует каталазу. При гидролизе оставшегося в растворе LDL-холестерина холестеринэстеразой образуется свободный холестерин, который окисляется кислородом воздуха под действием холестериноксидазы с образованием эквимолярного количества перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогенный субстрат с образованием окрашенного продукта, оптическая плотность которого измеряется фотометрически при длине волны 578 (570-600) / 700 нм. Концентрация LDL-холестерина в анализируемых образцах прямо пропорциональна величине оптической плотности.

3. СОСТАВ

- реагент 1 – буфер, содержащий холестериноксидазу – не менее 4,5 Е/мл; холестеринэстеразу – не менее 4,2 Е/мл; каталазу – не менее 900 Е/мл; аскорбатоксидазу – не менее 4,5 Е/мл; готов к использованию:
- комплект 1 - 1 флакон (45 мл),
- комплект 2 - 2 флакона (по 45 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (45 мл),
- комплект 4 - 2 флакона (по 45 мл),

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- комплект 5 - 2 флакона (по 40 мл),
- комплект 6 - 2 флакона (по 40 мл),
- комплект 7 - 4 флакона (по 20 мл),
- комплект 8 - 4 флакона (по 20 мл),
- комплект 9 - 3 флакона (по 50 мл),
- комплект 10 - 3 флакона (по 50 мл),
- комплект 11 - 2 флакона (по 64 мл),
- комплект 12 - 2 флакона (по 64 мл),
- комплект 13 - 1 флакон (40 мл),
- комплект 14 - 3 флакона (по 16 мл),
- комплект 15 - 4 флакона (по 45 мл).

- реагент 2 – буфер, содержащий пероксидазу – не менее 18 Е/мл; натрия азид, 0,095 г/л, готов к использованию:

- комплект 1 - 1 флакон (15 мл),
- комплект 2 - 2 флакона (по 15 мл),
- комплект 3 - 1 флакон (15 мл),
- комплект 4 - 2 флакона (по 15 мл),
- комплект 5 - 2 флакона (по 14,5 мл),
- комплект 6 - 2 флакона (по 14,5 мл),
- комплект 7 - 4 флакона (по 7 мл),
- комплект 8 - 4 флакона (по 7 мл),
- комплект 9 - 3 флакона (по 18 мл),
- комплект 10 - 3 флакона (по 18 мл),
- комплект 11 - 2 флакона (по 23 мл),
- комплект 12 - 2 флакона (по 23 мл),
- комплект 13 - 1 флакон (14 мл),
- комплект 14 - 1 флакон (16 мл),
- комплект 15 - 2 флакона (по 30 мл).

- калибратор – калибровочный образец LDL-холестерина на основе сыворотки крови человека, лиофилизированный, содержащий после растворения в 1,0 мл дистиллированной воды LDL-холестерин, точная концентрация которого указана в паспорте на набор и на этикетке флакона; аттестован по NIST SRM 1951b «Lipids in Frozen Human Serum»:

- комплекты 3-5, 7, 9, 11 - 1 флакон.

В состав комплектов 1, 2, 6, 8, 10, 12-15 набора калибратор не входит. При постановке анализа могут быть использованы калибраторы, аттестованные данным методом и зарегистрированные в установленном порядке.

Примечания:

1. Компоненты сыворотки крови человека, входящие в состав калибратора, являются продуктом глубокой переработки крови человека, инактивированной и протестированной на отсутствие антител к ВИЧ 1,2, вирусу гепатита С и HBsAg.

2. Метрологическая прослеживаемость калибратора, входящего в состав набора, производится с использованием стандартного материала NIST SRM 1951b «Lipids in Frozen Human Serum», который является международно признанным калибратором. Метрологическая прослеживаемость калибратора осуществляется путем выполнения протокола переноса калибровки по стандартному материалу NIST SRM 1951b «Lipids in Frozen Human Serum» с целью приписывания целевого значения калибратору, входящему в состав набора.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения – в диапазоне 0,026-10,4 ммоль/л (1-400 мг/дл).

Чувствительность – 0,026 ммоль/л (1 мг/дл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Коэффициент вариации – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора: такие потенциально интерферирующие вещества, как гемоглобин до концентрации 5 г/л, триглицериды до концентрации 9,1 ммоль/л, билирубин до концентрации 855 мкмоль/л и общий белок до концентрации 110 г/л не влияют на правильность определения концентрации LDL-холестерина.

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

Диапазоны концентраций LDL-холестерина в сыворотке (плазме) крови:

< 3,37 ммоль/л (130,3 мг/дл) – оптимальные значения (низкий риск развития сосудистых заболеваний);

3,37-4,15 ммоль/л (130,3-160,5 мг/дл) – повышенные значения (средний риск развития сосудистых заболеваний);

> 4,15 ммоль/л (160,5 мг/дл) – высокие значения (высокий риск развития сосудистых заболеваний).

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 (гепарин).

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

Образцы можно хранить не более 2 суток при температуре +2-8°С или не более 1 месяца при температуре -18°С. Повторное замораживание образцов не допускается. Пробирки (флаконы) с образцами следует плотно закрывать.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагент 2 содержит токсичное вещество – натрия азид. При работе с набором следует соблюдать осторожность и не допускать вдыхания реагентов и калибратора, их попадания в глаза, на кожу и слизистые. При вдыхании следует немедленно обеспечить доступ свежего воздуха. При попадании в глаза, на кожу и слизистые следует немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды с мылом. При проглатывании следует выпить 0,5 л воды, вызвать рвоту, обратиться к врачу.

При работе с набором следует соблюдать 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, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения измерения при длине волны 578 (570-600) / 700 нм при температуре инкубации +37°С;
- термостат, обеспечивающий температуру +37±1°С;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- пробирки вместимостью 1,5-2 мл;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- дистиллированная вода;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- калибратор холестерина липопротеидов низкой плотности (для применения в комплектах 1, 2, 6, 8, 10, 12-15);
- 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 3-5, 7, 9, 11:

Во флакон с лиофилизированным калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды комнатной температуры (+18-25°С) и легким вращением флакона обводнить весь сухой материал. Следует избегать встряхивания флакона и образования пены. Необходимо следить за смачиванием всей сухой массы, постоянно помешивая содержимое флакона круговыми движениями, не допуская потери материала. После растворения лиофилизата выдержать его 10 минут при комнатной температуре (+18-25°С). Точная концентрация LDL-холестерина в калибраторе указана в паспорте на набор и на этикетке флакона.

- для комплектов 1, 2, 6, 8, 10, 12-15:

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°С.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 578 (570-600) / 700 нм;
Длина оптического пути: 10 мм;
Температура инкубации: +37°С;
Фотометрирование: против контрольной (холостой) пробы;
Тип реакции – «по конечной точке».

Отмерить и внести в пробирки, мкл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка (плазма) крови	5	-	-
Калибратор	-	5	-
Реагент 1	450	450	450
Пробы тщательно перемешать, инкубировать при +37°С в течение 5 минут (точно) и измерить величину оптической плотности опытных проб и калибровочной пробы (E_1) против контрольной (холостой) пробы			
Реагент 2	150	150	150

Пробы тщательно перемешать, инкубировать при +37°С 5 минут (точно), повторно измерить величину оптической плотности анализируемых проб и калибровочной пробы (E_2) против контрольной (холостой) пробы.

Примечание.

Расход реагентов и анализируемых образцов зависит от типа используемого прибора и объема кюветы.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10. РАСЧЕТЫ

Изменение оптической плотности (ΔE) каждой пробы рассчитать по формуле:

$$\Delta E = E_2 - E_1.$$

Концентрацию LDL-холестерина (C, ммоль/л) в образце сыворотки (плазмы) крови определить по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{ОП}}{\Delta E_{КАЛ}} \times C_{КАЛ},$$

где: $\Delta E_{ОП}$ – изменение оптической плотности опытной пробы, ед. опт. плотн.;

$\Delta E_{КАЛ}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

$C_{КАЛ}$ – концентрация LDL-холестерина в калибраторе, ммоль/л.

Примечания.

1. Коэффициенты пересчета единиц измерения: ммоль/л × 38,67 = мг/дл; мг/дл × 0,0259 = ммоль/л.

2. Если значение концентрации LDL-холестерина в анализируемой пробе превышает 10,4 ммоль/л (400 мг/дл), анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

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

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 24 месяца.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре +2-8°С не более 1 месяца.

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

Реагенты 1, 2 можно хранить на борту анализатора не более 1 месяца при условии круглосуточного охлаждения. Калибровка выполняется 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-

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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» А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

02 ИЮН 2021

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«02» 06 2021 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

**Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью**

Всего 8 листа(ов)

Ген. директор Плехов А.Г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru