

ИНСТРУКЦИЯ **к набору реагентов для определения холестерина** **ферментативным методом**

Торговая форма и состав набора

Кат №1.087.0.01	R1 Монореагент Калибровочный раствор холестерина 5,17 ммоль/дм ³	2 фл * 100 см ³ 1 фл * 2 см ³
Кат №1.087.0.02	R1 Монореагент Калибровочный раствор холестерина 5,17 ммоль/дм ³	2 фл * 250 см ³ 1 фл * 2 см ³

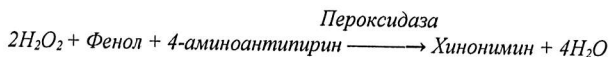
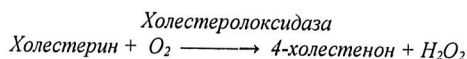
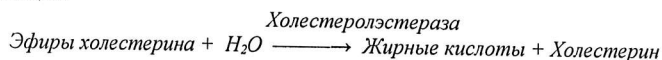
Введение

Холестерин относится к липидам, которые встречаются во всех клетках организма. Он необходим печени для синтеза клеточных мембран и некоторых гормонов. Определение концентрации холестерина является важным тестом в диагностике и классификации липемии.

Высокий уровень холестерина – это один из наиболее распространенных факторов риска сердечных заболеваний.

Принцип метода

Ферментативный колориметрический метод основан на последовательности реакций:



Концентрация образующегося окрашенного хинонимина прямо пропорционально концентрации холестерина в образце, что измеряется фотометрически при длине волны 490-500 нм.

Аналитические характеристики набора:

Чувствительность: не более 0,5 ммоль/дм³.

Линейность: до 20,0 ммоль/дм³.

Коэффициент вариации: не более 5%.

Образцы

Негемоллизированная сыворотка крови, гепаринизированная или ЭДТА-плазма крови.

Проведение анализа

Длина волны 490-500 нм, температура измерений 37° С, кювета 1 см.

Монореагент и калибровочный раствор готовы к использованию.

Схема 1. Соотношение компонентов в реакционной смеси

Раствор	Опытная проба, см ³	Холостая проба, см ³	Калибровочная проба, см ³
Образец	0,01	-	-
Монореагент	1,0	1,0	1,0
Калибровочный раствор	-	-	0,01

Реакционную смесь тщательно перемешать и инкубировать 5 мин при температуре 37°С. Измерить оптическую плотность опытной пробы ($A_{\text{проб}}$) и калибровочной пробы ($A_{\text{калибр}}$) относительно холостой пробы. Стабильность окраски 30 мин.

Расчет

Концентрацию холестерина в исследуемой жидкости ($C_{\text{пробы}}$) в ммоль/дм³ определяют по формуле:

$$C_{\text{пробы}} = (C_{\text{калибр}} / A_{\text{калибр}}) * A_{\text{пробы}}$$

где $C_{\text{калибр}}$ – концентрация холестерина в калибровочном растворе (см. на флаконе).

Параметры для автоматических биохимических анализаторов серии Mindray BS-120/200/300/330/400

Настройки для анализатора	
Тест	CHOL
№	*
Полное название	Холестерин
№ стандарта	*
Тип реакции	Конечная точка
Измерение против	Холостая проба
Первичная длина волны	510 нм
Направление	Увеличение
Время реакции	-1-19 комп.
Время инкубации	*
Температура	37° С
Единица измерения	ммоль/дм ³

Точность	0,01
Концентрация стандарта	5,17 ммоль/ дм ³
Соотношение реагент/проба	100:1
Объем R1	400
Объем R2	0
Объем пробы	4
R1 холост	0-0
Смеш холост реаг	0-0
Диапазон линейности	До 20 ммоль/ дм ³
Предел линейности	-
Чувствительность	Не более 0,5 ммоль/дм ³
Коэффициент вариации	Не более 5%
Верхний предел абсорбции реагента против воды	0,2 Е
Нижний предел абсорбции реагента против воды	0 Е
Предел субстр	0
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	линейная
Чувствительность	0
Повторы	2
Интервал	0
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

* значения вводит оператор.

Правило калибровки – линейная, на выбор:

Двухточечная линейная (физраствор/вода + стандарт из набора 1-го уровня)

двухточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня)
многоточечная линейная (физраствор/вода + стандарт из набора 1-го уровня + разведенный 1:1 стандарт из набора в качестве 2-го уровня)

Многоточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня + мультикалибратор 2-го уровня)

Нормальные значения

3,1 – 5,2 ммоль/дм³

Примечания

• Пробы с большим содержанием холестерина следует развести физиологическим раствором (0,9% NaCl) в соотношении 1:1, а результаты умножить на 2.

• Бледно-розовая окраска монореагента до оптической плотности 0,200, измеренная относительно дистиллированной воды при $\lambda=500$ нм, не влияет на правильность определения триглицеридов в исследуемом образце.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться при температуре 2-8° С в упаковке предприятия изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Монореагент и калибровочный раствор холестерина готовы к применению. Монореагент после вскрытия флакона может храниться не менее 6 месяцев при 2-8°С : темном месте! При хранении в холодильнике калибровочный раствор может мутнеть. В этом случае следует нагреть раствор до 35-40° С до исчезновения мутности. Предохранять от света и загрязнений!



ИНСТРУКЦИЯ
по применению наборов реагентов для определения холестерина
липопротеинов высокой плотности

Принцип метода

Метод основан на избирательном количественном осаждении липопротеиновых фракций низкой плотности в сыворотке и плазме крови при помощи полиэтиленгликоля в качестве осаждающего реагента.

Состав набора

- | | |
|---|-----------------------|
| 1. Осаждающий реагент | 1x100 см ³ |
| 2. Калибровочный раствор холестерина 1,29 ммоль/дм ³ | 1x4 см ³ |

Методика анализа.

Осаждающий реагент готов к использованию в поставляемом виде.

Осаждение проводить при температуре 20-25°C

К сыворотке или плазме крови в количестве 0,2 см³ добавляют 0.2 см³ осаждающего реагента для осаждения липопротеинов низкой плотности, перемешивают, применяя пробирочный микровстряхиватель, и оставляют на 5 мин., затем центрифугируют в течение 10 мин. при 4000 об/мин.

Объемы сыворотки и осаждающего реагента можно изменять, сохраняя соотношение между ними 1:1.

Далее в надосадочной жидкости при помощи “Набора реагентов для определения холестерина в биологических жидкостях ферментативным методом ТУ ВУ 100117887.087-2008” производства НТПК “Анализ Х” либо набора реагентов аналогичного назначения других отечественных или зарубежных производителей проводят определение концентрации холестерина липопротеидов высокой плотности (HDL-холестерина).

Методика анализа HDL-холестерина

Длина волны 490 – 500 нм, кювета с толщиной слоя 10 мм.

Для проведения анализа отбираются компоненты в количествах, согласно таблице

Соотношение компонентов в реакционной смеси.

Наименование компонента	Объем, см ³		
	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Надосадочная жидкость	0,05	-	-
Калибровочный раствор	-	0,05	-
Рабочий раствор	1	1	1

Реакционную смесь перемешивают и инкубируют 10 мин. при температуре 37 °С . Измеряют оптическую плотность опытной пробы (A_{пр}) и калибровочной пробы (A_{калибр}) относительно холостой пробы. Стабильность окраски 30 мин.

Расчет

Концентрацию HDL-холестерина в исследуемой жидкости (C_{HDL}) в ммоль/дм³ определяют по формуле:

$$C_{HDL} = A_{пр} / A_{калибр} \times 1,29 \times 2$$

где 1,29 - концентрация калибровочного раствора холестерина, ммоль/дм³;

2 - коэффициент, учитывающий разбавление сыворотки при осаждении липопротеинов.

Концентрацию LDL-холестерина (LDL-X), ммоль/дм³ рассчитывается из концентрации общего холестерина (ОХ), HDL-холестерина (HDL-X) и триглицеридов (ТГ) (концентрация ТГ может быть установлена при помощи “Набора реагентов для определения триглицеридов в биологических жидкостях ферментативным методом ТУ РБ 100117887.004-2002” производства НТПК “Анализ Х” или аналогичного) в соответствии с уравнением Фридволда

$$LDL-X = OX - HDL-X - TG/2,2$$

Нормальные величины:

HDL-холестерина: 0,91 – 1,96 ммоль/дм³.

LDL-холестерина: 2,6-5,07 ммоль/дм³.

Условия хранения и срок годности

Набор реагентов хранить при 2-8 °С.

Срок годности – 1 год.

Меры предосторожности

В наборе не содержатся ядовитые вещества. При работе с компонентами набора необходимо соблюдать общие правила техники безопасности работы с химическими веществами. При случайном попадании химических реактивов на кожу или в глаза их следует промыть проточной водой.