

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної  
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”  
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

REF № HP026.02

ТУ У 24.4-24607793-020-2003

## ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ХОЛЕСТЕРИНУ У СИРОВАТЦІ І ПЛАЗМІ КРОВІ ФЕРМЕНТАТИВНИМ МЕТОДОМ

IVD

### ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення концентрації холестерину та ефірів холестерину у сироватці крові і плазмі людини ферментативним методом у клініко-діагностичних і біохімічних лабораторіях і науково-дослідній практиці.

Набір розрахований на **190 мікро-, 95 напівмікро- або 45 макровизначень** холестерину з урахуванням холостих та калібрувальних проб.

Діапазон визначаємих концентрацій — від 0,5 ммоль/л до 19,4 ммоль/л.

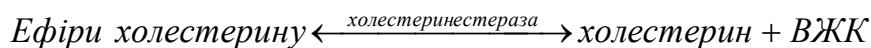
Коефіцієнт варіації визначення — не більше 5 %.

Зберігання набору — при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

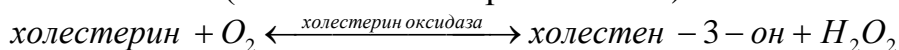
Гарантійний термін придатності набору — 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* професійно навченим лаборантом.

### ПРИНЦИП МЕТОДУ.



(ВЖК- вільні жирні кислоти)



Інтенсивність рожево-червоного або бузкового забарвлення реакційного розчину пропорційна концентрації холестерину.

### СКЛАД НАБОРУ

1. Ензимний реагент - 2 флакони по (100 ± 2) мл або 4 флакони по (50 ± 2) мл:
  - холестеринестераза (150 ± 15) Е/л;
  - холестериноксидаза (100 ± 10) Е/л;
  - пероксидаза (5,0 ± 0,5) КЕ/л;
  - 4-амінофеназон (0,300 ± 0,015) ммоль/л;
  - фенол (30,0 ± 1,5) ммоль/л;
  - ТРІС (30,0 ± 1,5) ммоль/л;
  - стабілізатори, активатори.
2. Калібрувальний розчин холестерину - 1 ампула або флакон з (1,5 ± 0,1) мл. з концентрацією (5,17 ± 0,10) ммоль/л

### ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, що забезпечує вимірювання оптичної щільності при 500 (500-550) нм у діапазоні (0 - 1,0) од. оптичної щільності та довжиною оптичного шляху 5 мм або 10 мм. (Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача.)
2. Автоматична водяна баня або термостат, що підтримують температуру плюс (37 ± 1) °С.
3. Пробірки місткістю 10 мл (ГОСТ 1770-74).
4. Піпетки місткістю 1; 2; 5 і 0,05 мл (ГОСТ 29227-91).

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки 21.07.2015

## ЗРАЗОК ДЛЯ АНАЛІЗУ

Свіжа сироватка або ЕДТО плазма крові. Гемоліз неприпустимий. Стабільна 7 діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С, замороженні - при температурі мінус 20 °С – декілька місяців.

### ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. **Ензимний реагент** готовий до роботи. Після використання реактиву для аналізу НЕГАЙНО закрийте флакон, щоб уникнути його випарювання або контамінації.
2. **Калібрувальний розчин холестерину** - готовий до роботи. Після розкриття реактив зберігають у холодильнику. При зберіганні в герметичній ємності розчин стійкий. Концентрація холестерину в розчині (5,17 ± 0,10) ммоль/л ((2,00 ± 0,04) мг/мл).
3. **Реактиви 1 та 2** стабільні до закінчення гарантійного терміну придатності (при дотриманні умов зберігання, зазначених на упаковці).

### ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводять у відповідності зі схемою представленої в таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в пробірку, мл	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Ензимний реагент	1,00	1,00	1,00
Аналізуємий розчин	0,01	-	-
Калібрувальний розчин холестерину	-	0,01	-
Дистильована вода	-	-	0,01

Розчин у пробірці ретельно перемішують і витримують у термостаті при плюс 37 °С протягом **10 хв** або інкубують **20 хв** при температурі від плюс 20°С до плюс 25 °С. Вимірюють оптичну щільність дослідної проби ( $E_{\text{дос}}$ ) і калібрувальної проби ( $E_{\text{кал}}$ ) **проти холостої проби**. Остаточне забарвлення (рожево-червоне або бұзкове) стабільне протягом **60 хв** після закінчення інкубації за умови запобігання від улучення прямого сонячного світла. Фотометрування - див. розділ «Обладнання»

Витрату реактивів можна масштабувати, виходячи з постійного співвідношення  
**Ензимний реагент : Аналізуємий розчин = 100 : 1**

### РОЗРАХУНОК

Ведуть за формулою (1):

$$C = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{кал}}} \times 5,17 \text{ ммоль/л, де} \quad (1)$$

C - концентрація холестерину в дослідній пробі, ммоль/л;

$E_{\text{дос}}$  - оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;

$E_{\text{кал}}$  - оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;

5,17 - концентрація холестерину в калібрувальному розчині, ммоль/л.

### ПЕРЕРАХУНОК ОДИНИЦЬ

$$\underline{\underline{\text{мг/100 мл} \times 0,02585 = \text{ммоль/л}}}$$

### ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди вище 20 г/л), гемоліз (гемоглобін вище 2 г/л), аскорбінова кислота вище 50 мг/л та білірубін вище 200 мг/л впливають на результат визначення.

На хід визначення також можуть робити вплив деякі ліки і речовини (наприклад: ацетамінофен, N-ацетилцістеїн (НАС), метамізол приводять к одержанню фальшиво занижених результатів).<sup>3)</sup>

## КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: «Ліонорм» (Чехія), «Біоконт С» (Росія), "ФілоНорм" або „ФілоПат” (Україна).

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості.

## РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ<sup>2</sup>

у сироватці, плазмі крові людини

Вік, років	Стать	мг/100 мл 5-95 перцентиль	ммоль/л
Кров з пуповини	Ч:	44-103	1,14-2,66
	Ж:	50-108	1,29-2,79
0-4	Ч:	114-203	2,95-5,25
	Ж:	112-200	2,9-5,18
5-9	Ч:	121-203	3,13-5,25
	Ж:	126-205	3,26-5,30
10-14	Ч:	119-202	3,08-5,23
	Ж:	124-201	3,21-5,20
15-19	Ч:	113-197	2,93-5,10
	Ж:	119-200	3,08-5,18
20-24	Ч:	124-218	3,21-5,64
	Ж:	122-216	3,16-5,59
25-29	Ч:	133-244	3,44-6,32
	Ж:	128-222	3,32-5,75
30-34	Ч:	138-254	3,57-6,58
	Ж:	130-230	3,37-5,96
35-39	Ч:	146-270	3,78-6,99
	Ж:	140-242	3,63-6,27
40-44	Ч:	151-268	3,91-6,94
	Ж:	147-252	3,81-6,53
45-49	Ч:	158-276	4,09-7,15
	Ж:	152-265	3,94-6,86
50-54	Ч:	158-277	4,09-7,17
	Ж:	162-285	4,20-7,38
55-59	Ч:	156-276	4,04-7,15
	Ж:	172-300	4,45-7,77
60-64	Ч:	159-275	4,12-7,15
	Ж:	172-297	4,45-7,69
65-69	Ч:	158-274	4,09-7,10
	Ж:	171-303	4,43-7,85
>70	Ч:	144-265	3,73-6,86
	Ж:	173-280	4,48-7,25

Дані величини орієнтовні, рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії.

## ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Холестерин є високомолекулярним стероїдом, що містить структуру циклопентанофенантрена.

У організм людини холестерин надходить з їжею, але велика його частина синтезується ендогенно в печінці.

Холестерин є компонентом клітинних мембран, попередником стероїдних гормонів і жовчних кислот.

Холестерин транспортується в плазмі ліпопротеїнами, виділяється в незміненому вигляді в жовч або, після трансформації, у вигляді жовчних кислот.

Приблизно 10% населення страждає гіперхолестеринемією.

**Рівень холестерину в крові підвищується** при наступних захворюваннях і станах: Захворювання печінки; внутрішньо та позапечінковий холестаза; панкреатит, новоутворення підшлункової залози; Захворювання нирок (ХПН, нефротичний синдром, гломерулонефрит); Цукровий діабет; Гіпотиреоз; Спадкові дефекти (нездатність виробляти ліпопротеїнліпазу, дефіцит рецепторів ЛПНЩ).

Підвищення рівня холестерину прямо пропорційно збільшенню ризику розвитку атеросклерозу і ураження коронарних і периферичних судин<sup>4,5</sup>.

Гіпохолестеринемія відмічається при хворобі Танжера, цирозі і злоякісних новоутвореннях печінки, синдромі мальабсорбції, гіпертиреозі, недостатності харчування та ін.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

### **ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ**

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Ензимний реагент включає фенол (отруйна речовина).

### **УТИЛІЗУВАННЯ**

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і спільно з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

### **ПРИМІТКИ**

1. Якщо концентрація холестерину в пробі вище, ніж **19,4 ммоль/л**, то пробу варто розвести фізіологічним розчином (розчин хлориду натрію 150 ммоль/л) і аналіз провести повторно. Отриманий результат помножити на розведення.
2. Величина оптичної щільності ензимного реагенту проти води при довжині хвилі 546 нм не повинна перевищувати 0,3.

### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Schettler, G., Nussel, E., Arbeitsmed. Sozialmed. Chol. Praventiv. Med. 10,25 (1975).
2. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, перевод с англ. под редакцией В.В. Меньшикова, стр. 128, «Лабинформ», Москва, 1997.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd Edition Saunders Co, 1991.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th edition AACC Press, 1997.

**FELICIT**

СР	2219/2003
09.11.2012	

**ТОВ НВП «Філіцит-Діагностика»**,

Україна, 49051 Дніпропетровськ, вул. Каштанова, 32

Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34

Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54

E-mail: felicit\_d@ua.fm <http://www.felicit.com.ua>