

«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 № HP026.03

ТУ У 24.4-24607793-020-2003

**ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ HDL
ХОЛЕСТЕРИНУ (ЛІПОПРОТЕЇДИ ВИСОКОЇ ЩІЛЬНОСТІ (ЛПВЩ)) У
СИРОВАТЦІ І ПЛАЗМІ КРОВІ**

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення концентрації HDL холестерину (ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ)) у сироватці крові і плазмі людини в клініко-діагностичних і біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **200 визначень** HDL холестерину (ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ)) (при витраті 1 мл на визначення).

Діапазон визначаємих концентрацій — від 0,5 ммоль/л до 25,8 ммоль/л.

Коефіцієнт варіації визначення — не більше 5 %.

Зберігання набору — при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

Гарантійний термін придатності набору — 12 місяців від дня виготовлення.

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

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Хіломікрони, ліпопротеїди дуже низької щільності LDL (ЛПДНЩ) і ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ) осідають при додаванні до дослідного зразка фосфорновольфрамової кислоти у присутності іонів магнію. Після центрифугування в супернатанті залишаються тільки ліпопротеїди високої щільності HDL (ЛПВЩ). Концентрація холестерину ЛПВЩ визначається ензиматичним колориметричним методом.

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

СКЛАД НАБОРУ

1. Осаджуючий реагент 2 флакони по (100 ± 2) мл:
- фосфорновольфрамова кислота (0,560 ± 0,028) ммоль/л;
 - хлорид магнію (30,0 ± 1,5) ммоль/л.

Для проведення аналізу також необхідний набір для визначення концентрації загального холестерину, наприклад, виробництва ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» „Холестерин Ф” REF HP026.02).

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. Центрифуга для пробірок (від 4000 об/хв до 5000 об/хв).
4. Пробірки місткістю 10 мл (ГОСТ 1770-74).
5. Піпетки місткістю 1; 2; 5 і 0,05 мл (ГОСТ 29227-91).

ЗРАЗОК ДЛЯ АНАЛІЗУ

Свіжа сироватка або К₂ ЕДТО (1 мг/мл) плазма крові. Гемоліз неприпустимий. ЛПНЩ холестерин стабільний при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С 7 днів.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. **Осаджуючий реагент** готовий до застосування і придатний до терміну, вказаного на упаковці, при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С. Після використання реактиву для аналізу НЕГАЙНО закрийте флакон, щоб уникнути його випарювання або контамінації.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводять у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в пробірку, мл	Дослідна проба	Калібрувальна проба	Холоста проба
Аналізуємий розчин	0,50	-	-
Осаджуючий реагент	1,00	-	-
Перемішати, витримати 10 хв при температурі від плюс 15°С до плюс 25 °С, центрифугувати 20 хв при 4000 об/хв. Прозору надосадову рідину використовувати для визначення концентрації холестерину ЛПВЩ. <u>Ні в якому разі не допускати попадання осаду в реагент для визначення концентрації холестерину!</u>			
Надосадова рідина	0,20	-	-
Калібрувальний розчин холестерину	-	0,02	-
Дистильована вода	-	0,20	0,20
Ензимний реагент (REF <u>HP026.02-1</u>)	2,00	2,00	2,00
Розчин у пробірці ретельно перемішують і витримують у термостаті при плюс 37 °С протягом 20 хв або інкубують 30 хв при температурі від плюс 15°С до плюс 25 °С. Вимірюють оптичну щільність дослідної проби (E _{дос}) і калібрувальної проби (E _{кал}) проти холостої проби . Остаточне забарвлення (<u>рожево-червоне або бұзкове</u>) стабільне протягом 60 хв після закінчення інкубації за умови запобігання від улучення прямого сонячного світла. Фотометрування - див. розділ «Обладнання»			

РОЗРАХУНОК

Ведуть за формулою (1):

$$C = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{кал}}} \times 1,551 \text{ ммоль/л,} \quad \text{де} \quad (1)$$

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

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

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

1,551 – значення концентрації калібратору з урахуванням розведень калібратора з концентрацією (5,17 ± 0,10) ммоль/л відносно сироватки, ммоль/л.

ПЕРЕРАХУНОК ОДИНИЦЬ

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

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.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди до 10 г/л) не впливає на результат визначення. Гемоліз (гемоглобін вище 5 г/л), білірубін вище 100 мг/л.

На хід визначення також можуть робити вплив деякі ліки і речовини (наприклад: *ацетамінофен, N-ацетилцістеїн (НАС), метамізол* приводять к одержанню **фальшиво занижених результатів**).⁴⁾

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ²

Вік, років	Стать	мг/100 мл 5-95 перцентиль	ммоль/л
Кров з пуповини	Ч:	6-53	0,16-1,37
	Ж:	13-56	0,34-1,45
5-9	Ч:	38-75	0,98-1,94
	Ж:	36-73	0,93-1,89
10-14	Ч:	37-74	0,96-1,91
	Ж:	37-70	0,96-1,81
15-19	Ч:	30-63	0,78-1,63
	Ж:	35-74	0,91-1,91
20-24	Ч:	30-63	0,78-1,63
	Ж:	33-79	0,85-2,04
25-29	Ч:	31-63	0,8-1,63
	Ж:	37-83	0,96-2,15
30-34	Ч:	28-63	0,72-1,63
	Ж:	36-77	0,93-1,99
35-39	Ч:	29-62	0,75-1,6
	Ж:	34-82	0,88-2,12
40-44	Ч:	27-67	0,7-1,73
	Ж:	34-88	0,88-2,28
45-49	Ч:	30-64	0,78-1,66
	Ж:	34-87	0,88-2,25
50-54	Ч:	28-63	0,72-1,63
	Ж:	37-92	0,96-2,38
55-59	Ч:	28-71	0,72-1,84
	Ж:	37-91	0,96-2,35
60-64	Ч:	30-74	0,78-1,91
	Ж:	38-92	0,98-2,38
65-69	Ч:	30-75	0,78-1,94
	Ж:	35-96	0,91-2,48
>70	Ч:	31-75	0,8-1,94
	Ж:	33-92	0,85-2,38

у сироватці, плазмі крові людини³⁾

чоловіки

Норма: > 1,42 ммоль/л
Група ризику: 0,9-1,42 ммоль/л
Патологія: < 0,9 ммоль/л

жінки

> 1,68 ммоль/л
1,16-1,68 ммоль/л
< 1,16 ммоль/л

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

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- ЛПВЩ відіграють важливу роль в евакуації холестерину з тканин і транспортуванні в печінку для його видалення у вигляді жовчних кислот.
- Понижений вміст ЛПВЩ - холестерину свідчить про захворювання атеросклерозом, який є основною причиною інфаркт міокарду і інсультів.

3. Існує декілька причин, пов'язаних із зниженим рівнем ЛПВЩ: гострі або хронічні захворювання гепатоцитів, внутрішньовенна гіпераліментация, крайній ступінь недоїдання, діабет, хронічна анемія, мієлопроліферативні захворювання, хвороба Tangier, аналфаліпротейнемія, гострі стреси, деякі ліки і куріння, А- α -ліпопротейнемія, недостатність кофактора ліпопротейніпази (Аро С-II), різні форми гіпо- α -ліпопротейнемії (спадкова гіпо- α -ліпопротейнемія, Аро А-I Milano, хвороба риб'ячого ока, сімейна недостатність лецитин-холестерин ацилтрансферази, спадкова недостатність Аро А-I/C-III), різні форми гіпертригліцеридемії. Деякі захворювання супроводжуються вторинним зниженням рівня ЛПВЩ-холестерина: декомпенсований цукровий діабет, раннє ураження коронарних артерій, гепатоцелюлярні захворювання, холестази, нефротичний синдром, ХПН.
4. ↑. Спадкова гіпер- α -ліпопротейнемія. Деякі захворювання супроводжуються вторинним підйомом рівня ЛВЩ-холестерина: первинний біліарний цироз печінки, хронічний гепатит, алкоголізм, інші хронічні інтоксикації.

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

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Осаджуючий реагент включає фосфорновольфрамову кислоту - їдку речовину.

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. Визначенню заважають: фториди, оксалати, цитрати.
2. Надосадова рідина після центрифугування повинна бути прозорою. Якщо ні, то пробу варто розвести фізіологічним розчином (розчин хлориду натрію 150 ммоль/л) в співвідношенні 1 : 1 і аналіз провести повторно. Отриманий результат помножити на розведення (2).
3. Калібрування водним стандартом може викликати відхилення, пов'язане з розчинником, особливо при роботі на деяких типах аналізаторів. У таких випадках рекомендується проводити калібрування з використанням стандарту на основі сироватки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Assmann G., Internist, 1979, vol. 20, p.499.
2. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, перевод с англ. под редакцией В.В. Меньшикова, стр. 504-505, «Лабинформ», Москва, 1997.
3. US National Cholesterol Education Program Expert Panel. Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. Arch Intern Med 1988; 148:36-39.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests 4th ed. AACCC Press, 1995.



СР	2219/2003
09.11.2012	

ТОВ НВП «Філісіт-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>