

«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

Код за НК 024:2019 – **53391**

REF № **HP026.04**

ТУ У **24.4-24607793-020-2003**

**ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ HDL
ХОЛЕСТЕРИНУ (ЛІПОПРОТЕЇДІВ ВИСОКОЇ ЩІЛЬНОСТІ (ЛПВЩ)) У
СИРОВАТЦІ І ПЛАЗМІ КРОВІ ПРЯМИМ МЕТОДОМ
“ХОЛЕСТЕРИН-HDL Ф”**

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

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

Набір розрахований на **66 мікро- або 16 напівмікрровизначень** HDL холестерину (ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ)) (з урахуванням холостих та калібрувальних проб) (Див. *Примітку 2*).

Діапазон визначаємих концентрацій — від 0,03 ммоль/л до 4,66 ммоль/л.

Коефіцієнт варіації визначення — не більше 5 %.

Чутливість ⁷ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,008 ммоль/л (600/700 нм).

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

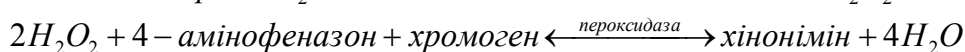
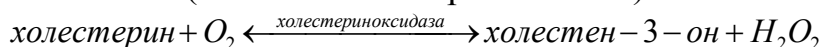
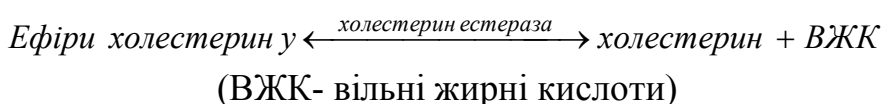
Гарантійний термін придатності набору — 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Сумісна дія полімерів і детергентів розчиняє холестерин з ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) (HDL), а холестерин з ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) (LDL), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) (VLDL) та хіломікронів залишає нерозчинним.

Холестерин HDL, за допомогою реакцій, описаних нижче, утворює забарвлений комплекс. Абсорбція, виміряна при довжині хвилі 600 нм, пропорційна концентрації холестерину HDL.



СКЛАД НАБОРУ

1. Маскуючий реагент HDL – 1 флакон з (40 ± 2) мл;
 - пероксидаза (5,0 ± 0,5) КЕ/л;
 - 4-амінофеназон (0,900 ± 0,050) ммоль/л;
 - ТРІС (30,0 ± 1,5) ммоль/л;
 - стабілізатори, активатори.
2. Реагент на холестерин HDL – 1 флакон з (10,0 ± 0,5) мл.
 - ТРІС (30,0 ± 1,5) ммоль/л;
 - холестеринестераза (4000 ± 15) Е/л;
 - холестериноксидаза (10000 ± 10) Е/л;
 - стабілізатори, хромоген, активатори.
3. Калібрувальний розчин холестерину з концентрацією (5,17 ± 0,10) ммоль/л – 1 ампула або флакон з (1,5 ± 0,1) мл.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, що забезпечує вимірювання оптичної щільності при **600 нм** (або при біхроматичному варіанті вимірювання ще при референтній довжині хвилі **700 нм**) у діапазоні (0-1,0) од. оптичної щільності та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Автоматична водяна баня або термостат, що підтримують температуру плюс $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.
3. Пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).
4. Піпетки місткістю 1; 2; 5 та 0,05 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ЗРАЗОК ДЛЯ АНАЛІЗУ

Свіжа сироватка або гепаринізована плазма крові. Гемоліз неприпустимий. Зразки стабільні при температурі від плюс $2 ^\circ\text{C}$ до плюс $8 ^\circ\text{C}$ протягом 4 діб.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Всі розчини готові для роботи. Придатні для роботи до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови зберігання при температурі від плюс $2 ^\circ\text{C}$ до плюс $8 ^\circ\text{C}$ у темному місці (світлочутливі). Після використання реактивів для аналізу **НЕГАЙНО** закрийте флакон, щоб уникнути випарювання або контамінації реактиву.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводять у відповідності зі схемою представленої в таблиці 1.

Таблиця 1

Відміряти в кювету, мл	Дослідна проба		Калібрувальна проба		Холоста проба	
	напівмікро	мікро	напівмікро	мікро	напівмікро	мікро
Фізіологічний розчин	--	--	0,012	0,003	--	--
Аналізуємий розчин	0,024	0,006	--	--	--	--
Маскуючий реагент	2,400	0,600	2,400	0,600	2,4	0,60
Калібрувальний розчин холестерину	--	--	0,012	0,003	--	--
Перемішати, витримати 5 хв при температурі плюс 37°C , вимірювати оптичну щільність дослідної ($E_{\text{досл1}}$) і калібрувальної ($E_{\text{кал1}}$) проб проти холостої проби , додати						
Реагент на холестерин	0,600	0,150	0,600	0,150	0,6	0,15
Розчин ретельно перемішують і витримують у термостаті при температурі плюс $37 ^\circ\text{C}$ протягом 5 хв . Вимірюють оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{дос2}}$) і калібрувальної проби ($E_{\text{кал2}}$) проти холостої проби . Остаточне забарвлення стабільне протягом 5 хв після закінчення інкубації за умови запобігання від улучення прямого сонячного світла. Фотометрування - див. розділ «Обладнання»						

РОЗРАХУНОК

Ведуть за формулами (1) та (2):

$$\Delta E = (E_2 - E_1) \quad (1)$$

$$C = \Delta E_{\text{дос}} / \Delta E_{\text{кал}} \times 2,585 \text{ ммоль/л, де} \quad (2)$$

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

$\Delta E_{\text{дос}}$ - різниця оптичних щільностей дослідної проби, од. оптичної щільності;

$\Delta E_{\text{кал}}$ - різниця оптичних щільностей калібрувальної проби, од. оптичної щільності;

2,585 - концентрація калібратора з урахуванням розведення, ммоль/л.

ПЕРЕРАХУНОК ОДИНИЦЬ

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

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями активності, визначеними даним методом. Наприклад: «Ліонорм» (Чехія), «ФілоНорм» або «ФілоПат» (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ ²

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 людини ⁶

	чоловіки	жінки
Норма:	> 1,42 ммоль/л	> 1,68 ммоль/л
Група ризику:	0,9-1,42 ммоль/л	1,16-1,68 ммоль/л
Патологія:	< 0,9 ммоль/л	< 1,16 ммоль/л

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

ПРИМІТКИ

1. Якщо концентрація HDL холестерину в зразку перевищує 4,66 ммоль/л, 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).
2. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 0,75 мл (мікро-), 3,0 мл (напівмікро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

Маскуючий реагент HDL : Реагент на холестерин : Аналізуємий розчин = 400 : 100 : 4

3. Найбільша точність визначення досягається при використанні двох світлофільтрів (*особливо у випадку ліпемічних зразків*): основна довжина хвилі – **600 нм** і референтна довжина хвилі – **700 нм**. При цьому з величини екстинції виміряної при довжині хвилі – 600 нм необхідно відняти величину екстинції виміряної при довжині хвилі – 700 нм.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ЛПВЩ холестерин відіграє важливу роль при видаленні холестерину із тканин і перенесенні його в печінку у вигляді жовчних кислот.

Понижений вміст ЛПВЩ-холестерину в плазмі призводить до атеросклерозу – основної причини інфаркта міокарду та інсультів^{4,5}.

Існує декілька причин, що призводять до зниженого рівня HDL-холестерину: гострі або хронічні гепатоцелюлярні захворювання, внутрішньовенна гіпераліментация, порушення харчування, діабет, хронічна анемія, мієлопроліферативні розлади, хвороба Танж'є, анафаліпопротеїнемія, деякі ліки і куріння^{4,5}.

↓. А- α -ліпопротеїнемія, недостатність кофактора ліпопротеїнази (Аро С-II), різні форми гіпо- α -ліпопротеїнемії (спадкова гіпо- α -ліпопротеїнемія, Аро А-I Milano, хвороба риб'ячого ока, сімейна недостатність лецитин-холестерин ацилтрансферази, спадкова недостатність Аро А-I/С-III), різні форми гіпертригліцеридемії. Деякі захворювання супроводжуються вторинним зниженням рівня ЛПВЩ-холестерина: декомпенсований цукровий діабет, раннє ураження коронарних артерій, гепатоцелюлярні захворювання, холестаза, нефротичний синдром, ХПН.

↑. Спадкова гіпер- α -ліпопротеїнемія. Деякі захворювання супроводжуються вторинним підйомом рівня ЛПВЩ-холестерина: первинний біліарний цироз печінки, хронічний гепатит, алкоголізм, інші хронічні інтоксикації.

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

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди < 12 г/л), аскорбінова кислота до 500 мг/л, гемоглобін > 5 г/л та білірубін (< 400 мг/л) не впливають.

На хід визначення також можуть впливати деякі ліки і речовини (наприклад: ацетамінофен, N-ацетилцістеїн (NAC), метамізол приводять к одержанню фальшиво занижених результатів)³.

УТИЛІЗАЦІЯ

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

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

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Маскуючий реагент HDL та Реагент на холестерин HDL включають отруйні речовини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Burtis, C. A., Ashwood E. R., N. W. Tietz: Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia 1994
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. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 1995.
4. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co., 1991.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. 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.
7. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філісет-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, 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: filicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>