«ПОГОДЖЕНО»	«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший заступник голови Державної служби України з лікарських засобів	Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія” Державного управління справами
09 листопада 2012 р. ***І.Б. Демченко***	*30 жовтня 2012 р.* ***І.П. Семенів***

Код за НК 024:2023– **53359** **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 (**з урахуванням холостих та калібрувальних проб)** на відповідну кількість визначень холестерину(Див. ***Примітку 3***):

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
HP026.02	**200**	**100**	**50**	*HP026.07*	**500**	**250**	**125**
HP026.06	**1000**	**500**	**250**	*HP026.08*	**100**	**50**	**25**
HP026.09	**50**	**25**	**12**	*HP026.10*	**250**	**125**	**60**

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

Коефіцієнт варіації визначення — не більше 5 %.

Чутливість [6] на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,018 ммоль/л (500 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.

$$\textit{Ефіри холестерину} \xleftrightarrow{\textit{холестеринестераза}} \textit{холестерин} + \textit{ВЖК}$$

(ВЖК- вільні жирні кислоти)

$$\textit{холестерин} + O_2 \xleftrightarrow{\textit{холестериноксидаза}} \textit{холестен} - 3 - \textit{он} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + 4 - \textit{амінофеназон} + \textit{хромоген} \xleftrightarrow{\textit{пероксидаза}} \textit{хінонімін} + 4H_2O$$

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

СКЛАД НАБОРУ

1. Ензимний реагент
   - 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.

   HP026.02 - *2 флакони по (100 ± 2) мл або 4 флакони по (50 ± 2) мл:*
   HP026.06 - *1 пляшка з (1000 ± 20) мл;*
   HP026.07 - *5 флаконів по (100 ± 2) мл;*
   HP026.08 - *1 флакон з (100 ± 2) мл або 2 флакони по (50 ± 2) мл;*
   HP026.09 - *1 флакон з (50 ± 2) мл;*
   HP026.10 - *5 флаконів по (50 ± 2) мл*
2. Калібрувальний розчин холестерину з концентрацією (5,17 ± 0,10) ммоль/л

   HP026.02, HP026.06 - HP026.10 *- 1 ампула або флакон з (1,5 ± 0,1) мл.*

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 (згідно з чинними нормативними документами).

Набори повинні транспортуватися при температурі від + 2 °С до + 25 °С усіма видами критого транспорту. Допускається транспортування при температурі до + 25°С до 3-ох діб.

4. Піпетки місткістю 1,0; 2,0; 5,0 та 0,05 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

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		
	Мікро	Напів-мікро	Макро	Мікро	Напів-мікро	Макро	Мікро	Напів-мікро	Макро
Ензимний реагент	1,00	2,00	4,00	1,00	2,00	4,00	1,00	2,00	4,00
Аналізуємий розчин	0,01	0,02	0,04	-	-	-	-	-	-
Калібрувальний розчин холестерину	-	-	-	0,01	0,02	0,04	-	-	-
Дистильована вода	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,04

Розчин у пробірці ретельно перемішують і витримують у термостаті при плюс 37 °С протягом ***5 хв*** або інкубують ***20 хв*** при температурі від плюс 20°С до плюс 25 °С. Вимірюють оптичну щільність дослідної проби ($E_{дос}$) і калібрувальної проби ($E_{кал}$) **проти холостої проби**. Остаточне забарвлення ***(рожево-червоне або бузкове)*** стабільне протягом ***60 хв*** після закінчення інкубації за умови запобігання від улучення прямого сонячного світла. Фотометрування - див. розділ «Обладнання»

РОЗРАХУНОК

Ведуть за формулою (1):

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

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

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

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

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

ПЕРЕРАХУНОК ОДИНИЦЬ

мг/100 мл × 0,02585 = 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 впливати деякі ліки і речовини (наприклад: *метамізол, ацетамінофен, N-ацетилцістеін (NAC) приводять к одержанню* ***фальшиво занижених результатів***)[3].

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: Diacon N, Diacon P (Австрія), TruLab N, TruLab P (Німетчина), ”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]

у сироватці, плазмі крові людини

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

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

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.

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 липопротєїнами, 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 холестаз; панкреатит, новоутворення підшлункової залози; Захворювання нирок (ХПН, нефротичний синдром, гломерулонефрит); Цукровий діабет; Гіпотиреоз; Спадкові дефекти (нездатність виробляти ліпопротеїнлипазу, дефіцит рецепторів ЛПНЩ).

Підвищення рівня холестерину прямо пропорційно збільшенню ризику розвитку атеросклерозу і ураження коронарних і периферичних судин [4,5].

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).

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.
3. **Розраховано на загальний об'єм реакційної суміші: 4,04 мл (макро-), 2,02 мл (напівмікро-), 1,01 мл (мікро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

Ензимний реагент **:** *Аналізуємий розчин* **= 100 : 1**

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.
6. 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 «Філісіт-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

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **19.09.2023**