



Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості холестерину ліпопротеїдів високої щільності в сироватці або плазмі крові ХОЛЕСТЕРИН-ЛПВЩ СпЛ

IN VITRO

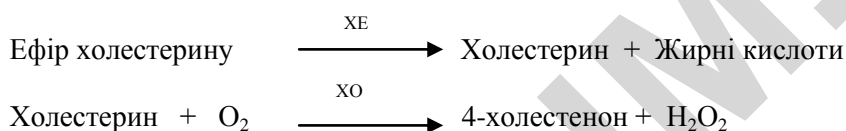
Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 100 визначень з урахуванням холостих і калібрувальних проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики

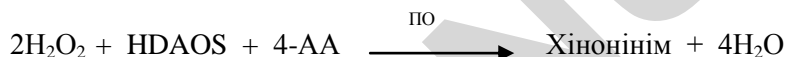
Принцип методу

Пряме визначення ліпопротеїдів високої щільності не вимагає будь-якої попередньої обробки або центрифугування. Аналіз проводиться в два етапи: ферментативний гідроліз та окислення (реакція Триндера).

1. Гідроліз ефірів холестерину за допомогою холестеролестерази.



2. Окислення 4-аміноантипірину під дією перекису водню та пероксидази з утворенням індикатору хіноніміму.



Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації холестерину ЛПВЩ у зразку.

Клінічне значення

Ліпопротеїди в крові здійснюють транспорт ліпідів, в тому числі холестеролу, від однієї клітинної популяції до іншої. На відміну від інших ліпопротеїдів, ЛПВЩ здійснюють транспорт холестерину від клітин периферичних органів (у тому числі судин серця, артерій мозку та інш.) в печінку, де холестерол переводиться в жовчні кислоти і виводиться з організму.

У жінок у середньому значення ЛПВЩ вище, ніж у чоловіків. Зниження концентрації ЛПВЩ-холестерину, а також співвідношення холестерину ліпопротеїдів низької щільності до ліпопротеїдів високої щільності більше 3:1 пов'язується з підвищеним ризиком атеросклерозу. Підвищений рівень ЛПВЩ-холестеролу розглядається як антиатерогенний фактор.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

- Реагент 1.** Буфер: N, N-біс (2-гідроксиетил)-2-аміноетансульфо кислота - 100 mM; HDAOS - 0.7 mM; холестеринестераза ≥ 800 Од/л; холестериноксидаза ≥ 500 Од/л; каталаза ≥ 8300 КОд/л; оксидаза аскорбінової кислоти ≥ 3000 Од/л.
- Реагент 2.** Буфер: N, N-біс (2-гідроксиетил) -2-аміноетансульфо кислота 100 mM; 4-аміноантипірін (4-АА) - 4 mM; пероксидаза ≥ 30500 Од/л.
- Інструкція з використання.
- Паспорт.

Додаткові реагенти

Калібратор Холестерину ЛПВЩ/ЛПНЩ постачається окремо

Аналітичні характеристики

- Лінійність вимірювального діапазону: 0.1 - 3.87 ммоль/л.

Відхилення від лінійності не перевищує 5%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 г/л та помножьте результат на 2.

- Чутливість не менш 0.1 ммоль/л.
- Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. В якості антикоагулянту рекомендован гепарин або ЕДТА. Не використовувати цитрат. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

Стабільність зразків 7 днів при 2-8°C, або 3 місяці при заморожуванні до -20°C.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 550-650 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Термостатична водяна баня з 37 °С.
- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

P1 та **P2** готові до використання.

Проведення аналізу

- Умови вимірювання:

довжина хвилі	550-650 нм
кювета з товщиною оптичного шару	1 см
температура	37°C
- Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води .
- Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити об'ємах, вказаних в таблиці.

	Холостий зразок	Стандартний зразок	Дослідний зразок
P1, мкл	300	300	300
Стандарт, мкл	-	3	-
Зразок, мкл	-	-	3
Змішати та інкубувати 5 хв. при 37°C на водяній бані			
P2, мкл	100	100	100
Змішати та інкубувати 5 хв. при 37°C на водяній бані			

- Виміряти оптичну щільність (E2) стандартного та дослідного зразку проти холостого зразка.

Прим. Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{см}}} \times C_{\text{см}}$$

- де: $C_{\text{дос}}$ - концентрація холестерину ЛПВЩ в дослідному зразку, ммоль/л,
 $E_{\text{дос}}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниці оптичної щільності,
 $E_{\text{см}}$ - оптична щільність стандарту, одиниці оптичної щільності,
 $C_{\text{см}}$ - вміст холестерину ЛПВЩ в стандарті, г/л.

Референтні величини

Ґрунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.



ХОЛЕСТЕРИН ЛПВЩ СпЛ

Колориметричний

	Чоловіки	Жінки
Низький, ммоль/л	> 1.295	> 1.554
Нормальний, ммоль/л	0.9065 - 1.295	1.1655 - 1.554
Високий, ммоль/л	< 0.9065	< 1.1655

Перехід в додаткові одиниці: мг/л x 0.00259 = ммоль/л.

Відтворюваність:

	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, мг/дл	28,0	76,1	27,5	75,3
SD	0,25	0,81	1,26	2,04
CV, %	0,89	1,06	4,60	2,71

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів СпайнЛаб (y), при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати:

Коефіцієнт кореляції (r)²: 0,938

Рівняння регресії: $y=0,9825x - 1,41606$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Білірубін до 30 мг/дл, гемоглобін до 500 мг/дл, ревматоїдний фактор до 1000 Од/мл, тригліцериди до 1200 мг/дл не впливають. Ліпемічні зразки з вмістом тригліцеридів більше 1200 мг/дл мають бути розведені в 10 разів фізіологічним розчином, результат помножити на 10.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «КОНТРОЛЬ НОРМА людська сироватка», «КОНТРОЛЬ ПАТОЛОГІЯ людська сироватка» (Spinreact, S.A. Іспанія), «ERBA NORM, PATH» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання. **P1** і **P2** після розкриття флакону стабільні 4 тижні при 2-8°C. Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 годин.

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.

Примітки

- ЛПВЩ Стандарт. Працюйте обережно з цим реагентом, оскільки за своєю природою він легко може забруднитися.
- Ліпемічні зразки з концентрацією тригліцеридів >12 г/л слід розвести 1:10 NaCl 9 г/л і помножити результат на 10.