

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



Е.Н.Схолль-Энгбертс

2013 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения концентрации общего белка в моче и спинномозговой жидкости колориметрическим методом с пирогаллоловым красным

(ОБЩИЙ БЕЛОК-ПК-ВИТАЛ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ОБЩИЙ БЕЛОК-ПК-ВИТАЛ предназначен для количественного определения концентрации белка в моче и спинномозговой жидкости человека колориметрическим методом с пирогаллоловым красным в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор может быть использован для определения концентрации белка при диагностике ряда патологических состояний организма человека, сопровождающихся изменением метаболизма белков.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 1,0 мл реагента на один анализ.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Белок образует с пирогаллоловым красным и молибдатом натрия комплексное соединение, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации белка в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 600 (590-620) нм.

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят следующие компоненты:

- реагент: монореагент [янтарная кислота, 50 ммоль/л; натрия гидроокись до pH 2,5; натрия молибдат, 40 мкмоль/л; пирогаллоловый красный, 60 мкмоль/л], готов к использованию - 2 флакона (по 100 мл);
- калибратор: калибровочный раствор с концентрацией общего белка 2,0 г/л [бычий сывороточный альбумин, 2,8 г/л; γ -глобулин бычий сывороточный, 1,2 г/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л], готов к использованию - 1 флакон (2,0 мл)

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения концентрации белка – в диапазоне 0,1-2,0 г/л, отклонение от «линейности» $\pm 5\%$.

Чувствительность определения – не более 0,05 г/л.

Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным образцам мочи и спинномозговой жидкости, аттестованным данным методом.

Нормальные величины концентрации белка: в моче – до 0,18 г/л, в спинномозговой жидкости – от 0,08 до 0,32 г/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Моча, негемолизированная спинномозговая жидкость человека.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г).

При проведении определения следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы мочи и спинномозговой жидкости человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные содержать возбудители любых инфекции.

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Г». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Г».

Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 600 нм, или фотоэлектроколориметр, диапазон длин волн 590-620 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,03 мл и 1,0 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 3,0-5,0 мл;
- центрифуга, обеспечивающая скорость вращения 3000-4000 об/мин;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Подготовка анализируемых образцов

Спинномозговую жидкость (СМЖ) следует центрифугировать при комнатной температуре ($+18-25^\circ\text{C}$) в течение 10 мин при 3000-4000 об/мин.

Построение калибровочного графика

В шесть пробирок вместимостью 3-5 мл внести калибратор и физиологический раствор в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1.

№ пробирок	Калибратор, мл	Физиологический раствор, мл	Концентрация общего белка, г/л
1	0	0,500	0,0
2	0,025	0,475	0,10
3	0,050	0,450	0,20
4	0,100	0,400	0,40
5	0,125	0,375	0,50
6	0,250	0,250	1,00

Содержимое пробирок тщательно перемешать. Полученные растворы использовать для построения калибровочного графика. Подготовленные растворы для калибровочных проб можно хранить при температуре + 2-8°C не более 10 дней.

Приготовить шесть рядов пробирок вместимостью 3-5 мл по 3 штуки в каждом ряду для калибровочных проб и одну пробирку для холостой пробы. В пробирки для калибровочных проб внести по 0,03 мл соответствующего раствора калибратора из пробирок 1-6, в пробирку для холостой пробы – 0,03 мл дистиллированной воды. В пробирки добавить 1,0 мл реагента, перемешать и выдержать в течение 10 мин при комнатной температуре (+18-25°C) или в течение 5 мин при температуре +37°C. Измерить оптическую плотность проб при длине волны 600 (590-620) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм против холостой пробы.

Построить калибровочный график, откладывая на оси ординат значения оптической плотности для каждой пробы, а на оси абсцисс – соответствующие им значения концентрации общего белка.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице 2.

Таблица 2

Отмерить, мл	Опытная проба	Контрольная (холостая) проба
Моча или СМЖ	0,03	-
Вода дистиллированная	-	0,03
Реагент	1,0	1,0

Пробы тщательно перемешать и выдержать 10 мин (точно!) при комнатной температуре (+18-25°C) или в течение 5 мин (точно!) при температуре +37°C. Измерить оптическую плотность опытной пробы против контрольной (холостой) пробы при длине волны 600 (590-620) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Окраска растворов устойчива в течение 10 мин при комнатной температуре.

РАСЧЕТЫ

Содержание общего белка в моче или спинномозговой жидкости (в г/л) определить по калибровочному графику.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор ОБЩИЙ БЕЛОК-ПК-ВИТАЛ должен храниться при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 30 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора - 18 мес.

Реагент после вскрытия флакона можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 6 мес.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 2 мес.

Если концентрация общего белка в анализируемой пробе достигает 2,0 г/л или превышает 2,0 г/л, пробу следует развести физиологическим раствором: мочу – в 3-5 раз, спинномозговую жидкость – в 5-10 раз, повторить определение и полученный результат умножить на коэффициент разведения.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д.27, корп. 38, лит. К, пом. 18,19.

Тел: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России:

116000, Москва, 2 Боткинский проезд, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России,
д.м.н., профессор



В.В. Долгов

8 ОКТ 2013