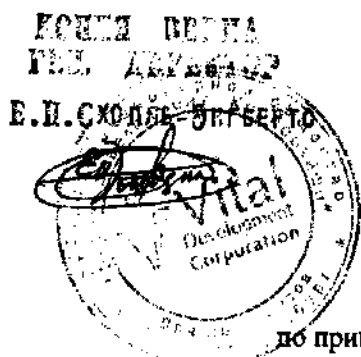


УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

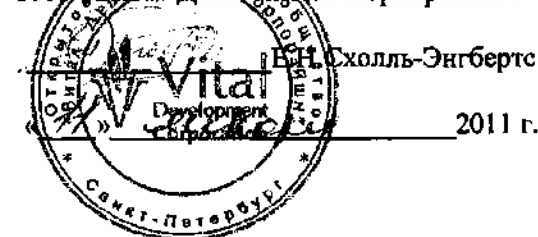
от _____ 2011 г. № _____



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ОАО «Витал Девелопмент Корпорейшн»



2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения
концентрации альбумина в моче человека иммунотурбидиметрическим методом

(Микроальбумин-Витал)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов Микроальбумин-Витал предназначен для количественного определения концентрации альбумина в моче человека иммунотурбидиметрическим методом.

Почечная протенинурия отмечается при всех патологических состояниях организма человека, связанных с повышением проницаемости поверхности мочевого тракта, таких, как диабетическая нефропатия, гломерулонефрит, волчаночный нефрит, пиелонефрит, кистозная почка, цистит, злокачественные новообразования мочевого тракта, амиоидоз, отравления тяжелыми металлами, отторжение пересаженной почки и др.

Основным диагностическим критерием нефропатии (гломерулопатии) является микроальбуминурия. Микроальбуминурия определяется как экскреция белка с мочой в количестве 30-300 мг в сутки. Наибольшее клиническое значение имеет микроальбуминурия у больных диабетической нефропатией, что позволяет осуществлять раннюю диагностику и мониторинг больных диабетом 1-го и 2-го типа, когда повреждения почечных клубочков минимальны и процесс обратим.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Принцип действия

Для определения концентрации альбумина использован метод иммунотурбидиметрического анализа. Исследуемые и контрольные образцы смешивают с буфером и антисывороткой к альбумину. Альбумин формирует иммунные комплексы с соответствующими поликлональными антителами; содержание комплексов зависит от концентрации альбумина в анализируемых образцах. Величина оптической плотности анализируемых образцов, измеряемая фотометрически при длине волны 340 нм, зависит от содержания альбумина в пробе. Концентрация альбумина определяется по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания альбумина в калибровочных пробах.

Состав набора

- реагент 1: буфер (фосфатно-солевой буферный раствор, pH 7,43; полиэтиленгликоль, 60 г/л; натрия азид, 0,95 г/л), готов к использованию – 1 флакон (90 мл) или 2 флакона (по 90 мл);
- реагент 2: антисыворотка (фосфатно-солевой буферный раствор, pH 7,43; козьи поликлональные антитела к человеческому сывороточному альбумину (ЧСА); натрия азид, 0,95 г/л), готова к использованию – 1 флакон (7,5 мл) или 2 флакона (по 7,5 мл);

- калибровочные пробы, содержащие 0; 15; 50; 100; 250 и 400 мг/л ЧСА в фосфатно-солевом буферном растворе, pH 7,43, готовы к использованию – 6 флаконов (по 1,0 мл);
- контрольная проба на основе мочи человека с известным содержанием ЧСА, готова к использованию – 1 флакон (0,5 мл)

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация альбумина не превышает 8,5 мг/л.

Специфичность. Не обнаружено перекрестной реакции поликлональных антител к ЧСА с другими белками мочи.

Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения альбумина в одном и том же образце мочи с использованием набора Микроальбумин-Витал не превышает 8%.

Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» - соответствие измеренной концентрации альбумина предписанной в пробе, полученной путем смешивания равных объемов контрольной пробы и калибровочной пробы 50 мг/л. Процент открытия составляет 90-110%.

Линейность. Зависимость концентрации альбумина в образцах мочи человека при разведении их буфером (реагент 1) имеет линейный характер в диапазоне концентраций 15-400 мг/л и составляет $\pm 10\%$.

Содержание альбумина в моче здорового человека не превышает 25 мг/л.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Реагенты 1 и 2 содержат токсичное вещество – натрия азид. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

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

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как моча человека является потенциально инфицированным материалом.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр или автоматический биохимический анализатор открытого типа, длина волны 340 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- секундомер;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 30; 75; 100; 450 и 480 мкл;
- пробирки вместимостью 3,0-5,0 мл;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- вода дистиллированная;
- бумага масштабнo-координатная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежесобранная в чистую посуду суточная моча человека. Пробы мочи отцентрифугировать при 2000 об/мин в течение 5-10 мин при комнатной температуре (+18-25°C). Пробы мочи можно хранить при температуре +2-8°C не более 48 часов; при необходимости более длительного хранения (до 1 мес) – при температуре минус 20°C и ниже.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты набора и анализируемые образцы мочи перед проведением анализа следует выдержать при комнатной температуре в течение времени не менее 30 мин.

Подготовить и промаркировать соответствующим образом по 2 пробирки вместимостью 3,0 мл для контрольной пробы и для каждой калибровочной пробы, по 1 пробирке для контрольной (холостой) пробы и для каждого образца анализируемой мочи. Внести в соответствующие пробирки по 30 мкл калибровочных проб; в пробирки для анализируемых образцов внести по 30 мкл исследуемых образцов мочи.

Добавить во все пробирки, кроме пробирки с контрольной (холостой) пробой, по 450 мкл реагента 1 (буфер); в пробирку для контрольной (холостой) пробы внести 480 мкл дистиллированной воды. Тщательно перемешать содержимое всех пробирок и измерить оптическую плотность калибровочных проб, контрольной пробы и анализируемых проб мочи ($ОП_1$) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Добавить во все пробирки по 75 мкл реагента 2 (антисыворотка), тщательно перемешать пробы и инкубировать все пробирки при комнатной температуре точно 5 мин, после чего измерить оптическую плотность калибровочных проб и анализируемых проб мочи ($ОП_2$) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Измерить оптическую плотность калибровочных проб ($ОП_1$ и $ОП_2$) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Рассчитать величину оптической плотности калибровочных проб ($\Delta ОП$) по формуле:

$$\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1.$$

Построить на масштабной-координатной бумаге калибровочный график в полулогарифмических координатах, откладывая по оси абсцисс (логарифмическая) значения концентрации ЧСА в калибровочных пробах, а по оси ординат (линейная) – значения соответствующих величин оптических плотностей калибровочных проб.

Измерить оптическую плотность анализируемых проб мочи ($ОП_1$ и $ОП_2$) против контрольной (холостой) пробы при длине волны 340 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Рассчитать величину оптической плотности каждого анализируемого образца мочи по формуле:

$$\Delta ОП = ОП_2 - ОП_1.$$

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Определить концентрацию альбумина в анализируемых образцах по калибровочному графику.

При использовании автоматического анализатора следует использовать нелинейную математическую модель калибровочной кривой: кусочно-линейное приближение, полиномиальное распределение или кубический сплайн.

Образцы мочи с концентрацией альбумина, превышающей 400 мг/л, следует развести физиологическим раствором в 10 раз, повторить определение и полученный результат умножить на 10.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8°C в течение всего срока годности (24 мес). Допускается хранение набора при температуре до +25°C не более 3 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

Набор рассчитан на проведение 100 или 200 определений при расходе 450 мкл реагента 1 и 75 мкл реагента 2 на один анализ.

Компоненты набора после вскрытия флаконов можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 6 недель.

Для проведения анализа возможно хранение образцов мочи при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 1 недели; при необходимости более длительного (до 3 мес) хранения – при температуре минус 20°C и ниже.

Для отбора и добавления реагентов анализируемых образцов рекомендуется использовать аттестованные полуавтоматические одноканальные пилетки со сменяемыми наконечниками.

При использовании набора для проведения нескольких независимых серий анализов необходимо иметь в виду, что для каждого независимого эксперимента необходимо построение нового калибровочного графика и рекомендуется определение концентрации альбумина в контрольной пробе.

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.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н. Схолль-Энгбертс

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины,
директор НЦ «Институт лабораторной медицины»
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова Росздрава,
Главный специалист-эксперт
по клин. лаб. диагностике Росздравнадзора
по С-ЗФО, д. м. н., профессор

В.Л.Эмануэль

