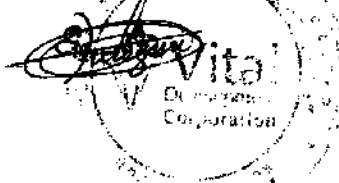


УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 2011 г. № _____

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕН. ДИРЕКТОР
Е.Н. СХОЛЛЬ-ЭНГБЕРТС



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Деवलупмент Корпорэйшн»



Е.Н. Схолль-Энгбертс

_____ 2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
концентрации натрия в сыворотке крови
энзиматическим колориметрическим методом

(Натрий-Витал)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Натрий-Витал предназначен для количественного определения концентрации натрия в сыворотке крови энзиматическим колориметрическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор Натрий-Витал рекомендуется использовать при невозможности проведения определения концентрации натрия в сыворотке крови ионселективным методом.

Набор выпускается в двух видах – лиофилизированном (вариант 1), рассчитанном на проведение 65 или 130 определений, и жидком (вариант 2), рассчитанном на проведение 80 или 160 определений при расходе 0,3 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Натрий-ионы активируют Na-зависимую β -галактозидазу; активированный фермент расщепляет о-нитрофенил- β -D-галактопиранозид до галактозы и окрашенного о-нитрофенола. Интенсивность окраски после окончания инкубации пропорциональна активности фермента и, соответственно, концентрации натрия в анализируемом образце и измеряется фотометрически при длине волны 420 (405-436) нм. Скорость расщепления о-нитрофенил- β -D-галактопиранозид пропорциональна концентрации натрия в анализируемой пробе, что позволяет производить измерение концентрации натрия псевдокинетическим двухточечным методом по увеличению оптической плотности раствора при длине волны 420 (405-436) нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

Вариант 1.

- реагент 1: буфер [трис(гидроксиметил)аминометан, 300 ммоль/л; кислота соляная; магния сульфат, 2,0 ммоль/л; криптант, 8,4 ммоль/л], pH 8,0 – 1 флакон (21 мл или 41 мл);
- реагент 2: стартовый реагент (о-нитрофенил- β -D-галактопиранозид, 1,5 ммоль/л); готов к использованию – 1 флакон (1,0 мл или 2,0 мл) или 2 флакона (по 1,0 мл);
- реагент 3: лиофилизат (конечная концентрация в рабочем реагенте: β -D-галактозидаза, 800 Е/л; бычий сывороточный альбумин, 0,1%) – 2 флакона или 4 флакона;
- реагент 4: стоп-реагент (гуанидин солянокислый, 2,25 моль/л); готов к использованию – 1 флакон (115 мл или 230 мл);
- калибратор: калибровочный раствор натрия хлорида с концентрацией 150 ммоль/л; готов к использованию – 1 флакон (1,5 мл).

Вариант 2.

- реагент 1: буфер [трис(гидроксиметил)аминометан, 300 ммоль/л; кислота соляная; магния сульфат, 2,0 ммоль/л; криптан, 8,4 ммоль/л], pH 8,0 – 1 флакон (45 мл или 23 мл);
- реагент 2: стартовый реагент (о-нитрофенил-β-D-галактопиранозид, 1,5 ммоль/л); готов к использованию – 1 флакон (5,0 мл);
- реагент 3: (β-D-галактозидаза, 800 Е/л; бычий сывороточный альбумин, 0,1%) – 1 флакон (5,0 мл или 2,5 мл);
- калибратор: калибровочный раствор натрия хлорида с концентрацией 150 ммоль/л; готов к использованию – 1 флакон (1,5 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения концентрации натрия – в диапазоне от 110 до 160 ммоль/л, отклонение от «линейности» – не более 7 %.

Чувствительность – не более 100 ммоль/л.

Коэффициент вариации результатов определений – не более 7 %.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом. Калибратор в наборе восходит к стандартным материалам NIST.

Нормальные величины концентрации натрия в сыворотке крови человека составляют 136-145 ммоль/л.

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

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2a.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности – соблюдение «Правил 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 работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 420 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 405-436 нм, позволяющие определить оптическую плотность с точностью до 0,001 ед.опт.плотн., кювета с длиной оптического пути 10 мм; программируемый фотометр или биохимический анализатор открытого типа;
- секундомер;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,1^\circ\text{C}$;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,01; 0,015; 0,3; 1,7 и 10 мл;
- пробирки вместимостью 3,0 – 5,0 мл;
- вода бидистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента

Для варианта 1: Содержимое одного флакона с реагентом 3 растворить в 10 мл реагента 1.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^\circ\text{C}$ не более 10 дней.

Для варианта 2: Смешать в колбе конической вместимостью 50 мл необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 9:1. Тщательно закрыть флаконы с реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C не более 10 дней.
Реагент 3 (по варианту 2), реагент 4 (по варианту 1) и калибратор готовы к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. По конечной точке (только для варианта 1).

Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице. Рабочий реагент должен быть предварительно нагрет до температуры +37°C.

Таблица			
Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Рабочий реагент (+37°C)	0,3	0,3	0,3
Калибратор	-	0,01	-
Сыворотка крови	0,01	-	-
Вода бидистиллированная	-	-	0,01

Примечание. При внесении каждого анализируемого образца сыворотки крови необходимо использовать новый чистый сухой наконечник; сыворотку внести в рабочий реагент и дважды ополоснуть наконечник пипетки в рабочем реагенте.

Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать при температуре +37°C в течение 2 мин (не менее!). После завершения инкубации добавить во все пробирки по 0,015 мл стартового реагента (реагент 2) для инициирования реакции, перемешать и инкубировать содержимое пробирок при температуре +37°C в течение 15 мин (точно!). Остановить реакцию, добавив во все пробирки по 1,7 мл стоп-реагента (реагент 4), и перемешать.

ВНИМАНИЕ. Метод требует постановки контроля образца к каждой анализируемой пробе; при этом в контроле образца сыворотку крови следует добавлять после внесения стоп-реагента.

Измерить оптическую плотность опытной, калибровочной, контрольной (холостой) проб и контроля образца против бидистиллированной воды при длине волны 420 (405-436) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Концентрацию натрия в сыворотке крови (ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{E_{оп}}{E_k} \times 150,$$

где: C - концентрация натрия в анализируемой пробе, ммоль/л;

$E_{оп}$ - оптическая плотность опытной пробы, минус оптическая плотность соответствующего контроля образца, ед. опт. плотн.;

E_k - оптическая плотность калибратора, минус оптическая плотность контрольной (холостой) пробы, ед. опт. плотн.;

150 - содержание натрия в калибраторе, ммоль/л;

2. Псевдокинетический двухточечный метод (для вариантов 1 и 2).

Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах указанных в таблице. Рабочий реагент должен быть предварительно нагрет до температуры +37°C.

Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать при температуре +37°C в течение 2 мин. После завершения инкубации добавить во все пробирки по 0,015 мл стартового реагента (реагент 2) для инициирования реакции, перемешать и измерить оптическую плотность (E_1) опытной, калибровочной и контрольной (холостой) проб против бидистиллированной воды при длине волны 420 (405-436) нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Через 1 мин (точно!) повторно измерить оптическую плотность (E_2) опытной, калибровочной и контрольной (холостой) проб в тех же условиях.

Вычислить $\Delta E = E_2 - E_1$ для опытной, калибровочной и контрольной (холостой) проб.

Концентрацию натрия в сыворотке крови (ммоль/л) рассчитать по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{оп} - \Delta E_{хол}}{\Delta E_{кал} - \Delta E_{хол}} \times 150,$$

где: С - концентрация натрия в анализируемой пробе, ммоль/л;

$\Delta E_{оп}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

$\Delta E_{кал}$ - оптическая плотность калибратора, ед. опт. плотн.;

$\Delta E_{хол}$ - оптическая плотность контрольной (холостой) пробы, ед. опт. плотн.;

150 - концентрация натрия в калибраторе, ммоль/л;

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25°C не более 5 сут.

Срок годности набора - 12 мес.

Реагенты 1, 2 (по вариантам 1 и 2), реагент 3 (по варианту 2) и калибратор после вскрытия флаконов можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 1 мес.

Реагент 4 (по варианту 1) после вскрытия флакона можно хранить при температуре до +25°C в течение всего срока годности набора, при условии достаточной герметизации флакона.

Рабочие реагенты, приготовленные из реагентов по вариантам 1 и 2, можно хранить при температуре +2-8°C не более 10 сут.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

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

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 4 листа (ов)
Ген. директор
Скочель-Энгбертс В.Н.

