

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Департамента государственного контроля

качества, эффективности, безопасности

лекарственных средств и медицинской техники МЗ РФ



Р.У.Хабриев

2000 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения билирубина
в сыворотке и плазме крови биуретовым методом
(Общий белок - Агат)



Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по лабораторным реагентам

Комитета по новой медицинской технике МЗ РФ

(протокол № 2 от 28 февраля 2000 г.)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения содержания общего белка в сыворотке или плазме крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор рассчитан на 400 определений при расходе 5,0 мл рабочего раствора биуретового реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ионы меди в щелочной среде взаимодействуют с пептидными связями белков сыворотки крови с образованием комплекса красного цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации общего белка и измеряется фотометрически при длине волны 540 (500-560) нм.

СОСТАВ НАБОРА

1. Биуретовый реагент, концентрат (медь сернокислая - 120 ммоль/л, калий йодистый - 300 ммоль/л, калий-натрий виннокислый - 320 ммоль/л, натрия гидроокись - 3 моль/л) - 1 флакон (100 мл).

2. Калибровочный раствор общего белка (раствор бычьего сывороточного альбумина с концентрацией 60 г/л с добавлением хлористого натрия 9 г/л и азида натрия 1 г/л) - 2 флакона (по 2 мл).

Инструкция составлена: к.б.н. Смирновым И.В. - ст.н.с. Гематологического научного центра РАМН, Майоровой В.В. - сотрудником ООО "Агат-Мед".

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения концентрации общего белка - в диапазоне от 20 до 120 г/л, отклонение от линейности - не более 3%.

Чувствительность определения - не более 10 г/л.

Воспроизводимость: коэффициент вариации не более 3%.

Нормальные величины концентрации общего белка в сыворотке (плазме) крови составляют:

- у взрослого человека 65-85 г/л;
- у новорожденных до 1 месяца 44-76 г/л;
- у детей до 1 года 51-73 г/л;
- у детей старше 1 года 60-80 г/л.

Качество набора можно оценивать по контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазоны нормальных величин у обследуемого контингента.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с данным набором необходимо соблюдать правила техники безопасности, рекомендуемые при работе с кровью в соответствии с "Инструкцией по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинично-диагностических лабораториях лечебных и профилактических учреждений", утвержденной Минздравом СССР от 17.01.91 г., и "Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР".

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 или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Биуретовый реактив содержит щелочь, едкое вещество. В случае попадания раствора на кожу и слизистые необходимо сразу же промыть пораженное место большим количеством проточной воды. Пипетирование реактoв категорически запрещается. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

ФОТО 1

Другие компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 540 нм, или фотозлектроколориметр, длина волны 500-560 нм (зеленый светофильтр), кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм;

- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,10 мл и 5,0 мл;
- колба мерная вместимостью 2,0 л;
- пробирки вместимостью 5 - 10 мл;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка или плазма крови.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Рабочий раствор биуретового реагента. Концентрат биуретового реагента развести дистиллированной водой в соотношении 1:19 (содержимое флакона - на 2 л раствора).

Калибровочный раствор общего белка готов к применению.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

В пробирки внести реактивы по следующей схеме:

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка (плазма) крови	0,10	-	-
Калибровочный раствор общего белка	-	0,10	-
Вода дистиллированная	-	-	0,10
Рабочий раствор биуретового реагента	5,00	5,00	5,00

Примечание: При использовании иного другого объема расход реактивов может быть пропорционально изменен с сохранением соотношения объема образца к объему рабочего раствора 1:50.

ФОТО 1

Содержимое пробирок тщательно перемешать, избегая образования пены, инкубировать при комнатной температуре (+18 - 25 °С) в течение 30 минут, после чего измерить величину оптической плотности калибровочной и опытных проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 540 (500-560) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм.

Окраска устойчива в течение 1 часа.

РАСЧЕТЫ

Концентрацию общего белка рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_0}{E_x} \times 60,$$

где С - концентрация общего белка в опытной пробе, г/л;

E_0 - оптическая плотность опытной пробы, ед.опт.плотн.;

E_x - оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;

60 - концентрация общего белка в калибровочном растворе, г/л.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

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

Срок годности набора - 2 года.

Рабочий раствор биуретового реагента может храниться в темном месте в плотно закупоренной пластиковой посуде при комнатной температуре (+18 - 25 °С) в течение 1 года.

Биуретовый реагент концентрат после вскрытия флакона может храниться в закупоренном виде при температуре +2 - 8 °С в течение всего срока годности набора.

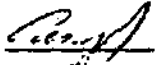
Калибровочный раствор общего белка после вскрытия флакона может храниться в закупоренном виде при температуре +2 - 8 °С в течение 6 месяцев, но не более срока годности набора.

ФОТО 1

При концентрации общего белка выше, чем 120 г/л, исследуемый образец необходимо развести дистиллированной водой в соотношении 1:1, повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО "Агат-Мед".

Телефоны для справок: (095) 460-50-48; 965-66-57; 965-75-75.

Ст.научн.сотр. ГНЦ РАМН к.б.н.  И.В. Смирнов

Научн. сотр. ООО "Агат-Мед"  В.В. Майорова