



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей компании ООО

«Эйлитон» - ООО «Юнимед-менеджмент»

Шибанов А.Н.

2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для количественного определения белка в моче
и в спинномозговой жидкости «ПГК-UTS»
по ТУ 21.20.23-001-59879815-2018

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для количественного определения белка в моче и в спинномозговой жидкости «ПГК-UTS» по ТУ 21.20.23-001-59879815-2018 предназначен для количественного определения концентрации белка в моче и в спинномозговой жидкости человека для диагностики *in vitro*.

1.2. Нормальное выделение общего белка с мочой у взрослого человека за сутки не превышает 150 мг. Нарушение способности гломерулярного фильтра селективно задерживать отрицательно заряженные белки (которое провоцируется или активируется инфекциями, аллергическими реакциями, иммунизацией) приводит к селективной протеинурии - потере низкомолекулярных заряженных белков.

Потеря больших количеств белка с мочой (> 3 г/сутки) почти всегда связана с нарушением функции гломерулярного фильтра почек в отношении заряда или размера белков, что ведет к нефротическому синдрому. При некоторых патологических состояниях наблюдается потеря белка, связанная с нарушением реабсорбции белков в проксимальном канальце (почечные заболевания, побочное действие некоторых лекарств и токсических веществ, иммунные процессы, инфекции, системные заболевания).

Перегрузочная протеинурия обусловлена появлением в плазме крови аномально большого количества белков, превышающего способность канальцев к их реабсорбции (лёгкие цепи иммуноглобулинов при миеломной болезни, гемоглобин при гемолитической болезни, миоглобин при распаде мышечной ткани).

Часть белков мочи может поступить из мочеполового тракта (мочеточник, мочевого пузырь, мочеиспускательный канал) - содержание этих белков в моче резко повышается при инфекциях, воспалении или опухолях мочеполового тракта.

Функциональная протеинурия может наблюдаться при гемодинамическом стрессе, вызванном высокой температурой, застойной сердечной недостаточностью, охлаждением или какими-либо острыми заболеваниями внутренних органов. Эта протеинурия исчезает после устранения вызвавшей её причины.

Увеличение содержания белка в СМЖ отмечают при нарушениях гемодинамики, воспалительных процессах, травмах, органических поражениях ЦНС и оболочек мозга.

Содержание белка в люмбальном ликворе составляет 0,15-0,45 г/л.

Гипопротеинария — это снижение содержания белка в люмбальном ликворе ниже 0,15 г/л, рассматривают как гидроцефальный ликвор. Гипопротеинария может возникать в результате уменьшения поступления сывороточного белка в ликвор, при увеличении скорости обмена ликвора, при удалении большого количества ликвора по поводу гидроцефалии, при проведении пневмоэнцефалографии, у больных с доброкачественной внутричерепной гипертензией, гипертиреозом, при некоторых лейкозах.

Гиперпротеинария проявляется при субарахноидальных кровоизлияниях, опухолях мозга, гипертонической энцефалопатии, острых и хронических воспалительных

БН.ПГК.001.18.000 ИП

процессах ЦНС различной этиологии (арахноидиты, арахноэнцефалиты, энцефалиты, менингиты и др.), абсцессах мозга, цистицеркозе мозга, при черепно-мозговой травме.

1.3. Показания к применению: количественное определение концентрации белка в моче и в спинномозговой жидкости человека для диагностики *in vitro*.

1.4. Окончательный диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

1.5. Область применения - клиническая лабораторная диагностика. Набор предназначен для диагностики *in vitro*. Предназначенный пользователь - медицинский персонал клинико-диагностических лабораторий.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

При взаимодействии белка с красителем пирогаллоловым красным в присутствии молибдата натрия в кислой среде образуется окрашенный комплекс, интенсивность поглощения которого при длине волны 600 нм увеличивается с ростом концентрации белка в пробе.

2.2. В состав медицинского изделия входят:

- Реагент – раствор красителя пирогаллолового красного и молибдата натрия в сукцинатном буфере,
 - Калибратор 1 г/л – калибровочный раствор общего белка 1 г/л,
 - Калибратор 0,2 г/л – калибровочный раствор общего белка 0,2 г/л.
- Соотношение белков в калибраторах: 70% альбумина / 30% глобулина.

Варианты исполнения набора:

«ПГК-UTS -1» - реагент (1 флакон 500 мл), калибратор 1 г/л (1 флакон 4 мл), калибратор 0,2 г/л (1 флакон 4 мл);

«ПГК-UTS -2» - реагент (2 флакона по 250 мл), калибратор 1 г/л (1 флакон 4 мл), калибратор 0,2 г/л (1 флакон 4 мл);

Набор рассчитан на 500 определений при расходе 1,0 мл реагента на одно определение.

Набор предназначен для диагностики *in vitro*.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность (предел обнаружения)

при соотношении Образец/Реагент = 1 : 50 не более 0,05 г/л;

при соотношении Образец/Реагент = 1 : 10 не более 0,02 г/л.

Примечание: чувствительность аналитической системы, включающей набор реагентов и оборудование, зависит от аналитических характеристик анализатора (фотометра, спектрофотометра), соответственно указан верхний предел минимальной определяемой концентрации белка при использовании данного набора.

Линейная область определения содержания общего белка при соотношении:

Образец/Реагент=1 : 50 0,05 - 4,0 г/л;

Образец/Реагент=1 : 10 0,02 - 0,5 г/л

Отклонение от линейности не более 10 %.

Воспроизводимость

Коэффициент вариации результатов определения концентрации белка в серии не более 5%. Допустимый разброс результатов при параллельных определениях концентрации белка в одной пробе разными наборами одной партии не превышает 10%.

Метрологическая прослеживаемость:

Концентрация белка в калибраторах устанавливают при аттестации каждой партии калибраторов с использованием рабочего стандарта общего белка, имеющего прослеживаемость до CRM 927d (NIST), с отклонением концентрации не более 5%.

Специфичность и влияние интерференентов на результаты анализа: Тест определяет содержание общего белка человека. Наличие билирубина и гемоглобина снижает специфичность анализа.

Интерференция различных лекарственных средств на результаты определения белка в моче было изучено в [2]: эффект не превышает 2%.

Информация о биологическом референтном интервале

Референтные пределы нормальных значений концентрации белка в моче – 0,02 - 0,12 г/л или 0,02 - 0,141 г/сут.

Референтные пределы нормальных значений концентрации белка в спинномозговой жидкости (СМЖ) – 0,15 - 0,45 г/л [1].

Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации белка исследуемого контингента пациентов.

Концентрация белка в моче или спинномозговой жидкости не может использоваться в качестве единственного показателя для диагностики заболеваний, но используется в сочетании с другими лабораторными показателями и другой диагностической информацией.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Набор реагентов предназначен только для диагностики *in vitro*. Класс потенциального риска применения набора – класс 2а.

4.2. К работе с набором допускается персонал, прошедший соответствующую профессиональную подготовку.

4.3. При работе с набором необходимо соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-112.

4.4. При работе с биологическими пробами следует использоваться средства индивидуальной защиты (халат, шапочка, одноразовые резиновые перчатки), т.к. образцы биоматериала человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

4.5. При работе с набором реагентов следует соблюдать требования СП 1.3.2322, ГОСТ Р 52905. Инструменты и оборудование, а также поверхности, на которых проводилась работа с использованием набора, должны быть обработаны раствором этилового спирта с объемной долей 70 % в течение нескольких секунд.

4.6. Калибраторы содержат азид натрия. Следует избегать попадания реагентов на кожу и слизистые оболочки. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.7. Смешивание реагентов набора с веществами, не упомянутыми в инструкции по применению набора, не допускается. Запрещается смешивать между собой реагенты разных партий.

4.8. Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с реагентами требуются следующие оборудование и материалы:

1. Фотометр, спектрофотометр или биохимический анализатор, длина волны 600 ± 20 нм, кювета с длиной оптического пути 1 см. Для измерения в оптических пробирках прибор

должен позволять проводить измерения с использованием двухволновой методики - длины волн 600 ± 20 нм (основная) и $650 \div 700$ нм (дифференциальная).

Предпочтительным для определения концентрации белка является использование фотометра биохимического специализированного ФБС-01-1 или анализатора мочи для определения белка и креатинина «URiSCAN-БК». Использование указанных анализаторов вместе с набором «ПГК-UTS» позволяет существенно упростить процедуру проведения анализа, сократить время проведения исследования и минимизировать расход реагентов на один анализ.

2. Центрифуга лабораторная.

3. Пипеточные дозаторы для дозирования объемов жидкости 20 мкл, 100 мкл и 1 мл.

4. Дистиллированная вода

5. Физиологический раствор (0,9 г/л NaCl).

Внимание: Следует использовать свежую дистиллированную воду, а также пробирки или кюветы, тщательно (не менее 10 раз!) ополоснутые водой и дистиллированной водой после использования моющих средств. В ином случае возможно получение неверных результатов вследствие взаимодействия реагента с белковыми загрязнениями на посуде и остатками моющего средства.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для анализа использовать образцы мочи и спинномозговой жидкости (СМЖ), собранные в специальные емкости для биоматериала или пробирки. Применение для сбора мочи пищевой или бытовой тары, особенно со следами моющего средства, может привести к искажению результатов анализа.

Суточная моча собирается в чистую сухую емкость. Накануне проведения исследования убрать из рациона питания продукты, способствующие окрашиванию мочи, например, овощи, фрукты и ягоды с яркой окраской. Соблюдается обычный питьевой режим. Начальная порция урины утром, после сна не собирается, но фиксируется время. Всю последующую мочу в течение ровно 24 ч собирать в ту же емкость и хранить в прохладном месте. Перед проведением измерений тщательно перемешать и измерить объем с точностью до 5 мл, записать значение и отобрать в емкость для сбора мочи примерно 50 мл пробы.

Хранение образцов мочи допускается при температуре от 2 до 8 °С не более двух суток.

Образцы СМЖ должны быть без следов гемолиза.

Хранение образцов СМЖ допускается при температуре от 2 до 8 °С не более четырех суток.

Ограничения, связанные с требованиями к пробам: Нельзя анализировать образцы с наличием мутности в одноволновом режиме измерений (см. п. 9). Нельзя анализировать образцы мочи, хранившиеся более двух суток, и образцы спинномозговой жидкости, хранившиеся более четырех суток, при температуре от 2 до 8 °С.

Нельзя анализировать образцы СМЖ с добавлением гепарина в качестве антикоагулянта, т.к. это может привести к заметному снижению результатов анализа белка [3]. Не рекомендуется использовать в качестве антикоагулянтов ЭДТА и фторид (ГОСТ Р 53079.4-2008).

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

Все реагенты готовы к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

Применение набора реагентов допускает следующие методы постановки анализа:

- ручной (мануальный) в случае использования фотометра /спектрофотометра с измерением оптической плотности анализируемой пробы и последующим расчетом концентрации белка.

- полуавтоматический метод постановки анализа в случае использования биохимического анализатора с автоматическим расчетом концентрации белка в пробе. Набор реагентов «ПГК-UTS» может быть использован для определения белка в двух диапазонах концентраций (0,05-4,0 и 0,02-0,5 г/л), определяющих соотношение смешиваемых компонентов Образец/Реагент. Для проведения общеклинических исследований проб в диапазоне нормы и патологии (0,05-4,0 г/л) следует применять соотношение Образец/Реагент=1:50.

Если требуется уточнить содержание белка (< 0,1 г/л), то следует применять соотношение Образец/Реагент=1:10.

8.1. Подготовка к анализу.

Перед определением белка рекомендуется отцентрифугировать образцы СМЖ, а также мутные и содержащие осадок образцы мочи, в течение 10 мин при 3000-4000 об/мин.

8.1.1. Определение содержания белка при соотношении Образец/Реагент=1:50.

Приготовить пробы смешением компонентов в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1.

Компоненты	Холостая проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Образец	—	—	20 мкл
Калибровочный раствор 1,0 г/л	—	20 мкл	—
Вода дистиллированная	20 мкл	—	—
Реагент	1 мл	1 мл	1 мл

Допускается пропорциональное изменение количества реагента и анализируемых образцов в соответствии с объемом используемой кюветы.

После смешения компонентов пробы инкубировать 10 мин при комнатной температуре (+18...+25 °С) или 37 °С. Окраска проб стабильна в течение 30 мин после смешивания проб при комнатной температуре.

Если результат определения содержания белка выше 4,0 г/л, следует развести исследуемый образец в 2 или более раз физиологическим раствором и повторить тест. Результат умножить на степень разведения.

Если значение определенной концентрации белка менее 0,1 г/л и требуется уточнение результата, повторить анализ образца при соотношении Образец/Реагент=1:10 в соответствии с п. 8.1.2 данной инструкции. Это соотношение неприменимо для анализатора «URiSCAN-БК».

8.1.2. Определение содержания белка при соотношении Образец/Реагент=1:10.

Для определения общего белка в области низких концентраций (0,02–0,5 г/л) приготовить пробы в соответствии с таблицей 2:

Таблица 2.

Компоненты	Холостая проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Образец	—	—	100 мкл
Калибровочный раствор 0,2 г/л	—	100 мкл	—
Вода дистиллированная	100 мкл	—	—
Реагент	1 мл	1 мл	1 мл

После смешения компонентов пробы инкубировать 10 мин при комнатной температуре (+18...+25°C) или 37 °C. Окраска проб стабильна в течение 30 мин после смешивания проб при комнатной температуре.

Если значение определенной концентрации белка выше 0,5 г/л или наблюдается выпадение осадка, повторить анализ образца при соотношении Образец/Реагент=1:50 в соответствии с п. 8.1.1 данной инструкции.

9. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.

Измерения и расчет концентрации белка.

При проведении измерений в оптических кюветах может использоваться одноволновая методика измерений. Если прибор рассчитан на проведение измерений в оптических пробирках, то следует использовать двухволновую методику измерений. *Все измерения проводить относительно холостой пробы.*

При использовании одноволновой методики (длина волны 600±20 нм), расчет концентрации белка проводится на основе соотношения:

$$C = \frac{C_{\text{станд}} \times D_{\text{образец}}^{600}}{D_{\text{станд}}^{600}};$$

При использовании двухволновой методики (основная длина волны: 600±20 нм; дифференциальная - 650–700 нм) концентрация белка рассчитывается по формуле:

$$C = \frac{C_{\text{станд}} \times \Delta D_{\text{образец}}}{\Delta D_{\text{станд}}},$$

где $C_{\text{станд}}$ – концентрация белка в калибровочном растворе (1,0 г/л или 0,2 г/л);

$D_{\text{станд}}^{600}$ – оптическая плотность калибровочной пробы на длине волны 600 нм относительно холостой;

$D_{\text{образец}}^{600}$ – оптическая плотность опытной пробы на длине волны 600 нм относительно холостой;

$\Delta D_{\text{станд}}$ – разность оптических плотностей калибровочной пробы на основной и дифференциальной длинах волн (600 и 650 нм);

$\Delta D_{\text{образец}}$ – разность оптических плотностей опытной пробы на основной и дифференциальной длинах волн (600 и 650 нм).

Расчет показателя суточной потери белка. Концентрацию белка в пробе мочи (в г/л) умножить на измеренный объем суточной мочи (в л/сут). Полученное значение в г/сут указывает суточную потерю белка с мочой.

Контроль качества определения концентрации общего белка можно проверить по контрольным материалам. Контрольные материалы правильности (прецизионности) проведения исследования должны соответствовать ГОСТ Р 51088, ГОСТ 53133.3 и должны быть аттестованы по концентрации общего белка (Protein total) пирогалловым методом в установленном порядке. Рекомендуется использовать контрольные материалы Liquichek для количественных исследований химических параметров мочи («Био-Рад, США) или «Набор водных контрольных растворов компонентов мочи «Мочевой контроль - Ново» («Вектор-Бест», Россия).

10. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Набор реагентов «ПГК-UTS» предназначен для диагностических целей, однако должен основываться только на результатах данного теста.

Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

Ограничения, связанные с требованиями к пробам – см. п 6.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

11.1. Транспортирование.

11.1.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от + 2 до + 25 °С не более 10 суток без применения специальных условий.

11.1.2. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

11.2. Хранение.

11.2.1. Хранение реагента во флаконе предприятия-изготовителя должно производиться при комнатной температуре от + 18 до + 25 °С в течение всего срока годности в сухом темном месте при отсутствии паров кислот, щелочей и органических растворителей.

Хранение калибраторов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в сухом темном месте при отсутствии паров кислот, щелочей и органических растворителей. Вскрытый флакон с калибратором следует хранить при той же температуре в течение не более 3 месяцев.

Вскрытый и плотно закрытый флакон с реагентом сохраняет при условии правильного хранения качество в течение всего указанного срока годности.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

11.2.2. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

11.3 Техническое обслуживание и ремонт:

Техническое обслуживание и ремонт не применимо, так как все компоненты набора реагентов подлежат расходу при подготовке анализируемых проб в процессе эксплуатации.

11.4. Эксплуатация.

11.3.1. При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- не использовать набор после окончания срока годности.
- не использовать набор реагентов, если упаковка повреждена.
- после использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.
- не оставляйте флакон с реагентом под воздействием прямых солнечных лучей, по окончании применения следует убирать компоненты Набора в коробки.
- не применяйте набор, если реагент изменил цвет (оптическая плотность реагента должна быть не менее 0,5 Б (ед. опт. плотн.) при 470 нм).

11.3.2. Все компоненты набора реагентов при соблюдении требований данной Инструкции стабильны в течение всего срока годности. Не используйте набор с истекшим сроком годности. Срок годности набора указан на внешней стороне упаковки.

11.3.3 Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

11.4. Утилизация.

11.4.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации как отходы классов А.

11.4.2. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые

классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

11.4.3. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

12. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

12.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

12.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

12.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

12.4. Информация о производителе:

Производится ООО «Эйлитон» по заказу ЗАО «А/О Юнимед».

Адрес производителя: 141983, Московская обл., г. Дубна, ул. Программистов, д. 4, стр. 2, пом. 29.

По вопросам, касающимся качества набора «ПГК-UTS», следует обращаться в ООО «Эйлитон» по адресу: 141983, Московская обл., г. Дубна, ул. Программистов, д. 4, стр. 2, пом. 29. Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31, Факс: (495) 564-86-41;

E-mail: office@unimed.ru; http://www.unimed.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Клиническое руководство по лабораторным тестам, под ред. Н.Тица/ М., Юнимед-Пресс, 2003, 942 с.*
2. *Young, DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3: 6-12.*
3. *ГОСТ Р 53079.4-2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа.*

Инструкцию составила:

Ведущий специалист отдела регистрации

ООО «Эйлитон»

«24» апреля 2019 г.

Е.В. Мягкова

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

«24» апреля 2019 г.





ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

« 04. 2019 » 201__ год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус И.К.