

4.2.2.9.). В пробирку ОТ₁ – добавить 1,0 мл контрольного лабораторного раствора общего белка с концентрацией 0,4 г/л (см. п. 4.2.2.9.). В пробирку ОТ₂ – добавить 1,0 мл контрольного лабораторного раствора общего белка с концентрацией 1,0 г/л (см. п. 4.2.2.9). Содержимое пробирок тщательно перемешать.

Концентрация общего белка в полученных растворах составляет 0,5 г/л (ОТ₁) и 0,8 г/л (ОТ₂).

4.2.2.11. Построение калибровочного графика

Калибровочный раствор общего белка, 10 г/л – калибратор, разбавить раствором натрия хлористого (см. п. 4.2.2.7) в следующих соотношениях:

Таблица 3

№ п/п	Объём калибратора, мл	Объём раствор натрия хлористого, 9 г/л, мл	Концентрация белка, г/л
1	0,05	4,95	0,1
2	0,20	4,80	0,4
3	0,30	4,70	0,6
4	0,50	4,50	1,0
5	0,75	4,25	1,5

Приготовить 5 рядов пробирок вместимостью 10 мл по 3 штуки в каждом ряду.

Во все пробирки внести по 5,0 мл реагента для определения общего белка (см. п. 4.2.2.6). В пробирки первого ряда добавить по 0,5 мл калибровочного раствора общего белка с концентрацией 0,1 г/л, в пробирки второго – пятого рядов – по 0,5 мл калибровочных растворов общего белка с концентрацией 0,4 г/л, 0,6 г/л, 1,0 г/л, 1,5 г/л, соответственно.

Содержимое пробирок тщательно перемешать, выдержать при комнатной температуре (18-25) °С в течение 10 минут и измерить оптическую плотность растворов против раствора натрия хлористого, 9 г/л при длине волны 410 (400-480) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Среднюю арифметическую величину оптической плотности проб с калибровочными растворами общего белка рассчитать по формуле (1):

$$\bar{E} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n E_i \quad (1),$$

где E_i – величина оптической плотности отдельных проб, ед. опт. плотн.;

n – число проб

Построить калибровочный график, откладывая по оси ординат среднее значение оптической плотности проб, а по оси абсцисс – соответствующие им значения концентрации общего белка, указанные в графе 4 таблицы 2.

4.2.2.12. Приготовление контрольного лабораторного раствора глобулинов 1,0 г/л.

В мерную колбу вместимостью 50 мл внести 0,5 мл раствор иммуноглобулина человека нормальный, 10 %, добавить 40 мл раствора натрия хлористого (см. п. 4.2.2.7.), тщательно перемешать и довести объем раствора до метки раствором натрия хлористого.

4.2.3. Проведение контроля

4.2.3.1. Определение оптической плотности раствора реактива Самсона.

В стеклянную пробирку вместимостью 10 мл внести 0,01 мл реактива 1 (реактив Самсона), 5,0 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать. Измерить оптическую плотность полученного раствора против дистиллированной воды при длине волны 540 нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см. Измерение выполнить не менее 3 раз и вычислить среднее арифметическое значение.

4.2.3.2. Определение подлинности реактива 2 – реактива Панди

На два предметных стекла налить по 2 капли реактива Панди (см. п. 4.2.2.2). На первое стекло поместить 1-2 капли раствора натрия хлористого (см. п. 4.2.2.7), на второе стекло КЛР общего белка, 1,0 г/л (см. п. 4.2.2.9, образец № 5), так, чтобы обе жидкости слились, и через 2 минуты визуально на темном фоне учесть результаты реакции.

4.2.3.3. Определение подлинности реактива 6 - реакция Нонне – Апелъта на глобулины

В пробирку внести 0,5 мл насыщенного раствора сернокислого аммония (см. п. 4.2.2.3.) и 0,5 мл КЛР глобулина (см. п. 4.2.2.12.), перемешать. В контрольную (холостую) пробирку внести 1,0 мл воды. Через 2 минуты визуально учесть результаты реакции, сравнивая опытную и контрольную пробы на темном фоне.

4.2.3.4. Определение соответствия калибратора контрольному лабораторному раствору общего белка, 10 г/л

Приготовить 2 ряда пробирок вместимостью 10 мл по 7 штук в каждом ряду. Внести во все пробирки по 5,0 мл реактива для определения общего белка (см. п. 4.2.2.6). В пробирки первого ряда добавить по 0,5 мл калибровочного раствора общего белка, 0,6 г/л (см. п. 4.2.2.11, образец № 3) в пробирки второго ряда – по 0,5 мл контрольного лабораторного раствора общего белка с концентрацией 0,6 г/л (см. п. 4.2.2.9, образец № 4).

Содержимое всех пробирок тщательно перемешать, выдержать в течение 10 мин при комнатной температуре (18-25)°С и измерить оптическую плотность опытных проб ($E_{\text{клр}}$) и калибровочных ($E_{\text{кал}}$) проб против раствора натрия хлористого, 9 г/л при длине волны 410 (400-480) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Среднюю арифметическую величину оптической плотности проб с контрольным лабораторным раствором общего белка и с калибровочным раствором общего белка рассчитать по формуле (1).

Концентрацию общего белка в калибровочном растворе рассчитать по формуле (2):

$$C_{\text{кал}} = \frac{\overline{E}_{\text{кал}}}{\overline{E}_{\text{клр}}} \times 0,6 \quad (2),$$

где $C_{\text{кал}}$ – концентрация общего белка в калибровочном растворе, г/л;

$\overline{E}_{\text{кал}}$ – средняя арифметическая величина оптической плотности калибровочного раствора, ед. опт. плотн.;

$\overline{E}_{\text{клр}}$ – средняя арифметическая величина оптической плотности контрольного лабораторного раствора, ед. опт. пл.;

0,6 – концентрация общего белка в контрольном лабораторном растворе, г/л.

Относительное расхождение (ΔC , %) между концентрацией общего белка в калибровочном растворе ($C_{\text{кал}}$) и в контрольном лабораторном растворе ($C_{\text{клр}}$) рассчитать по формуле (3):

$$\Delta C = \frac{C_{\text{кал}} - C_{\text{клр}}}{C_{\text{кал}}} \times 100 \quad (3).$$

4.2.3.5. Определение чувствительности

Приготовить 10 пробирок вместимостью 10 мл. Внести во все пробирки по 5,0 мл реагента для определения общего белка (см. п. 4.2.2.6) и по 0,5 мл контрольного лабораторного раствора белка с концентрацией 0,05 г/л (см. п. 4.2.2.9). Содержимое пробирок тщательно перемешать, выдержать при комнатной температуре (18-25) °С в течение 10 минут и измерить оптическую плотность растворов против раствора натрия хлористого, 9 г/л при длине волны 410 (400-480) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Среднюю арифметическую величину оптической плотности проб с контрольным лабораторным раствором рассчитать по формуле (1). Концентрацию белка (C , г/л) в контрольном лабораторном растворе определить по калибровочному графику (см. п. 4.2.2.11.).

4.2.3.6. Тест на «линейность»

Приготовить 5 рядов пробирок вместимостью 10 мл по 10 штук в каждом ряду. Внести во все пробирки по 5,0 мл реагента для определения общего белка (см. п. 4.2.2.6). В пробирки первого - пятого рядов добавить по 0,5 мл контрольных лабораторных растворов общего белка с концентрацией 0,1 г/л, 0,4 г/л, 0,6 г/л, 1,0 г/л и 1,5 г/л (см. п. 4.2.2.9), соответственно.

Далее провести анализ так, как это указано в п. 4.2.3.5.

Среднюю арифметическую величину оптической плотности проб с контрольными лабораторными растворами общего белка рассчитать по формуле (1), концентрацию общего белка в каждом контрольном лабораторном растворе определить по калибровочному графику (см. п. 4.2.2.11.)

Отклонение от «линейности» (L , %) рассчитать по формуле (4):

$$L = \frac{C_{np} - C_T}{C_T} \times 100 \quad (4),$$

где C_{np} – измеренная концентрация общего белка, г/л;

C_T – расчётная концентрация общего белка, г/л.

4.2.3.7. Тест на «открытие»

Приготовить 2 ряда пробирок вместимостью 10 мл по 10 штук в каждом ряду. Внести во все пробирки по 5,0 мл реагента для определения общего белка (см. п. 4.2.2.6). В пробирки первого ряда добавить по 0,5 мл раствора из пробирки ОТ₁ (см. п. 4.2.2.10), в пробирки второго ряда добавить по 0,5 мл раствора из пробирки ОТ₂ (см. п. 4.2.2.10).

Далее провести анализ так, как это указано в п. 4.2.3.5.

Среднюю арифметическую величину оптической плотности проб ОТ₁ и ОТ₂ рассчитать по формуле (1). Концентрацию общего белка (C , г/л) в образцах ОТ₁ и ОТ₂ определить по калибровочному графику (см. п. 4.2.2.11).

«Открытие» (ОТ, %) рассчитать по формуле (4).

4.2.3.8. Определение коэффициента вариации.

Приготовить 2 ряда пробирок вместимостью 10 мл по 10 штук в каждом ряду. Внести во все пробирки по 5,0 мл реагента для определения общего белка (см. п. 4.2.2.6). В пробирки первого ряда добавить по 0,5 мл контрольного лабораторного раствора белка с концен-

трацией 0,6 г/л (см. п. 4.2.2.9), в пробирки второго ряда – по 0,5 мл контрольного лабораторного раствора белка с концентрацией 1,0 г/л (см. п. 4.2.2.9).

Далее провести анализ так, как это указано в п. 4.2.3.5.

Концентрацию общего белка в каждой отдельной пробе каждого контрольного лабораторного раствора определить по калибровочному графику (см. п. 4.2.2.11), среднюю арифметическую величину концентрации общего белка в каждом контрольном лабораторном растворе рассчитать по формуле (1).

Коэффициент вариации (К.В., %) рассчитать по формуле (5):

$$K.B = \frac{100}{\bar{C}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{C} - C_i)^2}{n-1}} \quad (5),$$

где C_i – значение концентрации общего белка в каждой отдельной пробе контрольного лабораторного раствора, г/л;

$\bar{C}$ – среднее арифметическое значение концентрации общего белка в контрольном лабораторном растворе, г/л;

n – число проб.

4.2.3.9. Определение допустимого разброса результатов при параллельных определениях одной пробы разными наборами одной серии.

Приготовить 3 ряда пробирок вместимостью 10 мл по 10 шт в каждом ряду. В пробирки первого ряда внести по 5,0 мл реагента для определения общего белка (см. п. 4.2.2.6) из набора № 1, в пробирки второго ряда – по 5,0 мл реагента для определения общего белка из набора № 2, в пробирки третьего ряда – по 5,0 мл реагента для определения общего белка из набора № 3. Во все пробирки добавить по 0,5 мл контрольного лабораторного раствора белка с концентрацией 0,6 г/л (см. п. 4.2.2.9)

Далее провести анализ так, как это указано в п. 4.2.3.5.

Среднюю арифметическую величину оптической плотности проб с контрольным лабораторным раствором белка для каждого набора рассчитать по формуле (1), концентрацию общего белка (C , г/л) в контрольном лабораторном растворе для каждого набора определить по калибровочному графику (см. п. 4.2.2.11), построенному для каждого набора.

Разброс результатов (P , %) при параллельных определениях одной пробы разными наборами одной серии рассчитать по формуле (6):