

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

Код за НК 024:2019 – **59074**

REF № **HP019.01**

ТУ У 24.4-24607793-020-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СІРОГЛІКОЇДІВ (СІРОМУКОЇДІВ) У СІРОВАТЦІ КРОВІ (ТУРБИДИМЕТРИЧНИЙ МЕТОД)

ПРИЗНАЧЕННЯ

IVD

Набір призначений для визначення вмісту сіроглікоїдів (сіромукоїдів) (групи глікопротеїдів, що не осаджуються хлорною кислотою) у сироватці крові людини в клініко-діагностичних і біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **40 макро-** (фотометруємий об'єм 6,0 мл), **65 напівмікро-** (фотометруємий об'єм 3,6 мл) чи **200 мікровизначень** (фотометруємий об'єм 1,2 мл), вмісту сіроглікоїдів (з урахуванням холостих проб) (Див. *Примітку 3*).

Діапазон помутніння, що визначають - від 0 од. S-N до 15 од. S-N (за Shank та Hoagland).

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 10 %.

Чутливість³ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,03 од. S-N (630 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяця від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

При додаванні до сироватки крові розчину хлорної кислоти частина білкових речовин випадає в осад, а сіроглікоїди залишаються в розчині, з якого осаджуються фосфорновольфрамовою кислотою. За ступенем помутніння реакційного розчину роблять висновки про вміст сіроглікоїдів у сироватці крові людини.

СКЛАД НАБОРУ

- | | |
|---|-------------------------------|
| 1. Хлорна кислота (3,6 ± 0,2) моль/л | - 1 флакон з (50 ± 2) мл; |
| 2. Фосфорновольфрамова кислота (5,0 ± 0,1)% | - 1 флакон з (40 ± 2) мл; |
| 3. Розчин хлориду барію (48 ± 2) ммоль/л | - 1 ампула з (5,0 ± 0,3) мл; |
| 4. Концентрат розчину порівняння 1 | - 1 флакон з (11,0 ± 0,5) мл. |

ЗРАЗОК ДЛЯ АНАЛІЗУ

Сироватка крові. Стабільна 2 доби при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі (**630-690**) нм в діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Колби мірні місткістю 50; 100; 250 мл, пробірки місткістю 20 мл (згідно з чинними нормативними документами).
3. Піпетки місткістю 1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).
4. Центрифуга (швидкість від 2000 об/хв до 5000 об/хв).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1. **Робочий розчин хлорної кислоти** (1,8 ± 0,1) моль/л. Вміст флакону з **Хлорною кислотою** (3,6 ± 0,2) моль/л кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл,

доводять до мітки дистильованою водою і перемішують. Розчин стабільний при температурі від 0 °С до плюс 8 °С до закінчення гарантійного терміну придатності.

2. **Розчин порівняння 1.** До мірної колби місткістю 250 мл піпеткою відміряють 10,0 мл **Концентрату розчину порівняння 1** з флакону, доливають охолодженою до температури плюс 8 °С дистильованою водою до мітки та перемішують.
3. **Розчин порівняння 2.** До мірної колби об'ємом 50 мл піпеткою додають 1,5 мл розчину хлориду барію та доливають до мітки **Розчином порівняння 1**, охолодженим до температури плюс 10 °С. Вміст колби ретельно перемішують.
4. **Розчин фосфорновольфрамової кислоти** - готовий до роботи. Розчин стабільний при температурі від 2 °С до плюс 16 °С до закінчення гарантійного терміну придатності.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводять у відповідності зі схемою, приведеною в таблиці 1

Таблиця 1

Відміряти у пробірку, мл	Дослідна проба			Холоста проба		
	Макро	Напів-мікро	Мікро	Макро	Напів-мікро	Мікро
Сироватка	0,5	0,3	0,1	-	-	-
Фізіологічний розчин (0,9 % NaCl)	4,5	2,7	0,9	5,0	3,0	1,0
Робочий розчин хлорної кислоти	2,5	1,5	0,5	2,5	1,5	0,5
Змішують розчини (<u>розчин хлорної кислоти додають краплями</u>), перемішують інтенсивним струшуванням або за допомогою скляної палички, витримують 10 хв при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С) і центрифугують 15 хв при 2500-4000 об/хв на загальноклінічній центрифугі.						
Центрифугат	5,0	3,0	1,0	5,0	3,0	1,0
Фосфорновольфрамове кислота	1,0	0,6	0,2	1,0	0,6	0,2
Змішують реагенти струшуванням, витримують 15 хв при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С) і вимірюють оптичну щільність дослідної проби проти холостої проби .						

ПОБУДОВА КАЛІБРУВАЛЬНОГО ГРАФІКА

З **розчинів порівняння 1 і 2** готують ряд розведень за таблицею 2, які відповідають (1-15) одиницям помутніння за Shank та Hoagland (S-H).

Стандартні розчини змішують у пробірці, ретельно струшують та відразу фотометрують **проти дистильованої води**.

Таблиця 2

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7
Розчин порівняння 1 (мл)	5,7	5,4	5,1	4,8	4,5	3,0	1,5
Розчин порівняння 2 (мл)	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	3,0	4,5
Одиниці помутніння (S-H)	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	10,0	15,0

РОЗРАХУНОК

Вміст сіроглікоїдів у дослідній сироватці визначають в одиницях помутніння (S-H), використовуючи дані калібрувального графіка.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ

3-5 одиниць S-H.

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тісний зв'язок який несе вуглеводний компонент складного білка з будь-якими запальними процесами пояснюється тим, що він складається з декількох індивідуальних «гострофазних» протеїнів (фракція вуглеводно-протеїнових комплексів містить не менше восьми білків «гострої фази»). Це можуть бути:

1. Альфа1-кислий глікопротеїн (орозомукоїд);
2. Альфа1-антитрипсин;
3. Альфа2-глікопротеїн;
4. Гаптоглобін;
5. ZAG (Цинк-альфа2-глікопротеїн);
6. Фетуїн-А (альфа-фетопропротеїн);
7. Еритропоетин;
8. Хоріонічний гонадотропін.

У зв'язку з вищесказаним, даний аналіз може в більшій чи меншій мірі прояснити ситуацію при підозрі на будь-які запальні реакції (гострі і уповільнені процеси без яскравої клінічної симптоматики - тут цей тест найбільш корисний) або стани, що супроводжуються руйнуванням клітин і виходом сіромукоїдів в кров.

Загальний вміст сіроглікоїдів **збільшується** при запальних і некробіотичних процесах, в першу чергу, при наступних патологічних станах:

- Загостренні хронічних запальних захворювань;
- Злоякісних новоутвореннях, в тому числі після проведеного лікування неопластичного процесу (радіотерапія, променевий вплив, цитостатики, гормони) з метою прогнозу (показник, який прийшов в норму, свідчить про позитивний ефект від отриманих лікувальних заходів);
- Хворобах нижніх дихальних шляхів (запалення легенів, первинна легенева гіпертензія, плеврит, бронхіт, бронхіальна астма);
- Туберкульозному процесі, локалізованому в легенях, з метою прогнозування результату захворювання (чим вище концентрація - тим гірше прогноз);
- Некрозі серцевої м'язи (інфаркт міокарда);
- Цукровому діабеті;
- Окремої ниркової патології (гломерулонефрит);
- Ревматоїдному артриті;
- Системній червоній вовчанці (СЧВ);
- Подагрі;
- Загостренні хронічного холецистити (жовчнокам'яна хвороба);
- Запаленні підшлункової залози (панкреатит);
- Жовтяничному синдромі, особливо, обумовленого розвитком пухлинного процесу;
- Гострому порушенні мозкового кровообігу (інфаркт мозку);
- Захворюваннях щитовидної залози при розгляді питання про її хірургічне видаленні.

Рівень сіроглікоїдів **знижується** при захворюваннях з порушенням протеосинтетичної функції (синтез вуглеводно-білкових комплексів) печінки. До них можна віднести:

- Інфекційний гепатит;
- Цироз печінки будь-якого походження;
- Гепато-церебральній дистрофії;
- Гепатоцелюлярну дистрофію (хвороба Коновалова-Вільсона);
- Розсіяний склероз;
- Деякі ендокринні хвороби.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: "ФілоНорм" або „ФілоПат" (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

На хід визначення також можуть робити вплив деякі ліки і речовини.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Концентрат розчину порівняння 1 включає сірчану кислоту (їдка речовина). Хлорна кислота, Фосфорновольфрамова кислота, соляна кислота - їдкі речовини. Хлорид барію - отруйна речовина.

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ПРИМІТКИ

1. При роботі з центрифугою, яка має частоту обертання ротора нижче 2500 об/хв, можливо одержання помилково завищених результатів аналізу.
2. При відсутності центрифуги стадію центрифугування можна замінити фільтруванням через беззольний фільтр (синя стрічка) – у цьому випадку результати аналізу будуть занижені на 6 – 19 %, у залежності від сорту використаного фільтрувального паперу.
3. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 0,7 мл (мікро-), 2,1 мл (напівмікро-), 3,5 мл (макро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**
Робочий розчин хлорної кислоти : Фосфорновольфрамова кислота: Аналізуємий розчин = 5 : 2 : 1.

ЛІТЕРАТУРА

1. Камышников С. „Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике”, том 2, стр. 64-66, Минск «Беларусь» (2000).
2. Колб Г., Камышников С. Клиническая биохимия, стр. 142-144, Минск «Беларусь» (1976).
3. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філіцит-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34
Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54
E-mail: filicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>