

«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 024:2023 – **53592**

REF № **HP006.01**

ТУ У **24.4-24607793-018-2003**

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СПІВВІДНОШЕННЯ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ СИРОВАТКИ КРОВІ

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення співвідношення білкових фракцій у сироватці крові людини в клініко-діагностичних, біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **20 макровизначень**, при витраті фосфатних буферів по 5 мл кожного на визначення.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 10 %.

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

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

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

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Заснований на тому, що фосфатні розчини визначеної концентрації осаджують різні білкові фракції сироватки крові з утворенням дуже дрібної суспензії. За ступенем каламутності розчинів роблять висновок про співвідношення білків у дослідному матеріалі.

СКЛАД НАБОРУ

- | | |
|---|----------------------------|
| 1. Основний фосфатний буфер «О» - 3,347 М, рН (6,5 ± 0,1) | – 1 флакон з (100 ± 2) мл; |
| 2. Фосфатний буфер №1 - 3,084 М, рН (6,5 ± 0,1) | – 1 флакон з (100 ± 2) мл; |
| 3. Фосфатний буфер №2 - 2,496 М, рН (6,5 ± 0,1) | – 1 флакон з (100 ± 2) мл; |
| 4. Фосфатний буфер №3 - 2,359 М, рН (6,5 ± 0,1) | – 1 флакон з (100 ± 2) мл; |
| 5. Фосфатний буфер №4 - 1,959 М, рН (6,5 ± 0,1) | – 1 флакон з (100 ± 2) мл; |
| 6. Фосфатний буфер №5 - 1,622 М, рН (6,5 ± 0,1) | – 1 флакон з (100 ± 2) мл. |

АНАЛІЗУЄМИЙ МАТЕРІАЛ

Сироватка. Матеріал стабільний протягом тижня при плюс 4 °С або 3 місяці при мінус 20 °С.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **640 (620-700)** нм в діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Пробірки місткістю 20 мл (згідно з чинними нормативними документами).
3. Піпетки місткістю 1; 5 та 10 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Всі розчини готові до роботи. Придатні для роботи до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови збереження при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

(У випадку осадження кристалів у розчинах слід підігріти їх 30 хв при температурі близько 60°С, перемішати збовтуванням флаконів 7-10 хв та охолодити до кімнатної температури.)

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

У штатив приміщають 7 пробірок (ємністю 10 мл), позначених цифрами “0”, “1”, “2”, “3”, “4”, “5”, “6”. У “0” пробірку відмірюють 5 мл дистильованої води, а в пробірки “5”, “4”, “3”, “2”, “1” - по 5 мл відповідних **Фосфатних буферів (№5 - №1)**. У “6”-у пробірку вносять 3,75 мл розчину **Основного фосфатного буферу «О»**, 0,75 мл дистильованої води, ретельно перемішують і потім додають 0,5 мл сироватки. Вміст пробірки змішують 5-6-кратним перевертанням її, уникаючи утворення при цьому бульбашок повітря.

Потім у “0”, “1”, “2”, “3”, “4” і “5”-ю пробірки переносять по 0,5 мл отриманої суміші. **Перед додаванням у кожну пробірку**, суміш в пробірці “6” ще раз ретельно перемішують, **від цього залежить точність вимірювань**. Вміст кожної пробірки обережно перемішують і через 15 хв вимірюють оптичну щільність - розчинів (Е₁, Е₂, Е₃, Е₄ і Е₅) з пробірок “1”, “2”, “3”, “4” і “5” проти розчину з пробірки “0”. **Перед фотометруванням вміст пробірок необхідно ще раз ретельно перемішати, обережно піднімаючи з дна осад.**

РОЗРАХУНОК

1. Обчислюють показник оптичної щільності (Е) **альбумінів**. Для цього з показника (Е₁) "1-ї" проби віднімають показник (Е₂) "2-ї" проби.
2. Обчислюють показник оптичної щільності (Е) **α₁-глобулінів**. Для цього з показника (Е₂) "2-ї" проби віднімають показник (Е₃) "3-ї" проби.
3. Обчислюють показник оптичної щільності (Е) **α₂-глобулінів**. Для цього з показника (Е₃) "3-ї" проби віднімають показник (Е₄) "4-ї" проби.
4. Обчислюють показник оптичної щільності (Е) **β-глобулінів**. З показника (Е₄) "4-ї" проби віднімають показник (Е₅) "5-ї" проби.
5. Показник (Е₅) "5-ї" проби є показником (Е₅) **γ-глобулінів**.
6. Обчислюють співвідношення кожної фракції у відносних або в абсолютних відсотках.

Приклад розрахунку: для простоти розрахунку отримані значення оптичних щільностей множимо на 100, одержуємо (Е) "1"-ї проби - 78, (Е) "2"-ї - 35, (Е) "3"-ї - 30, (Е) "4"-ї - 24, (Е) "5"-ї - 13. Обчислюємо фракцію **альбумінів** $78 - 35 = 43$, **глобулінів**: $\alpha_1 35 - 30 = 5$, $\alpha_2 30 - 24 = 6$, $\beta 24 - 13 = 11$, $\gamma = 13$. Отриману суму фракцій $43 + 5 + 6 + 11 + 13 = 78$ приймаємо за 100 %, 43 - за X %, тоді $X = (100 \cdot 43) / 78 = 55,1$ % альбумінів.

Для вираження результату в абсолютних відсотках суму фракцій приймаємо за концентрацію загального білку в г %, визначеного біуретовим методом, тоді вміст кожної фракції буде відповідати її концентрації в г %.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Достовірність одержуваних результатів контролюється методом електрофорезу або за допомогою контрольних сироваток. Наприклад: "ФілоБФК" (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.

СПІВВІДНОШЕННЯ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ У СИРОВАТЦІ ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ

Білкові фракції	Середні показники за А. А. Покровським
	відносний %
Альбуміни	56,6—66,8
Глобуліни	
α ₁	3,0—5,6
α ₂	6,9—10,5
β	7,3—12,5
γ	12,8—19,0

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

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

У нормі альбуміно-глобулінове співвідношення (А/Г коефіцієнт) складає 1,2 - 2. Розмір цього показника значно знижується при хронічних дифузійних поразках печінки (хронічному гепатиті і цирозі), а також при інфекційних захворюваннях, запаленнях, лихоманці, пневмонії, плевритах, туберкульозі, ендокардиті, злоякісних процесах, плазмацитомі, амілоїдозі.

У діагностиці захворювань набагато більше значення має комплексна оцінка змін усіх виявлених фракцій білків.

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.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Розчини включають азид натрію (отруйна речовина).

ЛІТЕРАТУРА

1. Г. Колб, С. Камышников «Клиническая биохимия», стр. 20-22, Минск 1976, «Беларусь».



ТОВ НВП «Філісіт-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>