

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СИАЛОВЫХ КИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ (КАТ.№ В-12353)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 28.12.2009 г. № 10689-Пр/09
РУ № ФСР 2009/06525 от 28.12.2009 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для фотометрического количественного определения содержания сиаловых кислот в сыворотке и плазме крови в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 100 определений при конечном объеме реакционной смеси 4,4 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

При нагревании гликопротеидов сыворотки (плазмы) крови в кислой среде с гидролизующим реагентом отщепляются сиаловые кислоты. После осаждения белков центрифугированием сиаловые кислоты, остающиеся в супернатанте, при нагревании с цветообразующим реагентом образуют окрашенные соединения. Интенсивность окраски раствора пропорциональна содержанию сиаловых кислот в исследуемой пробе.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1. Гидролизующий реагент100 мл
Реагент 2. Цветообразующий реагент 40 мл
Калибратор 2 мл

Точное значение концентрации сиаловых кислот указано на этикетке флакона с калибратором.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 0,5 ммоль/л.

Линейность – от 1 до 4 ммоль/л с отклонением не более 10%.

Кoeffициент вариации – не более 10%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

В состав гидролизующего и цветообразующего реагентов входят едкие вещества. При попадании их на кожу или слизистые промывать пораженное место большим количеством воды.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, полуавтоматические анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объемы 0,4-3,0 мл, секундомер, водяная баня, центрифуга, пробирки вместимостью 10-20 мл, штатив.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови, гепаринизированная или ЭДТА-плазма.

Сиаловые кислоты в сыворотке крови в плотно закрытой пробирке стабильны при 0-4°C в течение 7 суток, при -20°C – в течение 4 недель [1].

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 532 (500-560) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Ход определения

В пробирки внести по 1 мл гидролизующего реагента, по 2 мл дистиллированной воды и по 0,6 мл сыворотки, плазмы крови или калибратора. Содержимое пробирок тщательно перемешать и поставить в кипящую водяную баню на 5 мин. Затем пробирки охладить в холодной воде, центрифугировать в течение 5 мин. при 3000 об/мин. Отобрать 2 мл супернатанта и проанализировать его по нижеприведенной схеме.

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Супернатант, мл	2,0	2,0	–
Цветообразующий реагент, мл	0,4	0,4	–
Дистилл. вода, мл	2,0	2,0	4,4

Содержимое пробирок перемешать, инкубировать в кипящей водяной бане в течение точно 15 мин., охладить в холодной воде и прибавить:

Измерить оптическую плотность опытной ($E_{обр.}$) и калибровочной ($E_{кал.}$) проб против холостой пробы.

Окраска стабильна в течение 30 минут.

РАСЧЁТ

Содержание сиаловых кислот в сыворотке и плазме крови C рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{обр.} \cdot C_{кал.}}{E_{кал.}} \text{ ммоль/л,}$$

где $C_{кал.}$ – концентрация сиаловых кислот в калибраторе, указанная на этикетке флакона с калибратором, ммоль/л.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При проведении анализа следует точно выдерживать временные интервалы нагрева проб на кипящей водяной бане.
2. При проведении второго инкубирования (15 мин.) необходимо использовать водяную баню большей ёмкости. Иначе после погружения пробирок с пробами вода может перестать кипеть, что приведёт к заниженным результатам.
3. При необходимости объёмы компонентов (гидролизующего реагента, образца, супернатанта, цветообразующего реагента, воды) могут быть пропорционально изменены.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

1,8-2,7 ммоль/л

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (18 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов стабильны 6 месяцев при хранении в плотно закрытых флаконах при 2-8°C. Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2-8°C не более 1 месяца при условии достаточной герметичности флакона.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам "СиалоТест-Контроль" производства НПЦ "Эко-Сервис" и контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999 г., "Лабинформ", с. 112.