

СР	7041/2007
	11.10.2012

Перший заступник  
Голови Державної служби України  
з лікарських засобів  
І.Б.Демченко  
11 жовтня 2012 р.

**Інструкція  
з використання тест-системи  
для визначення концентрації альбуміну в сечі**

**Альбумін – ІФА  
IN VITRO**

Зберігати при 4-10°C

**Принцип методу**

У наданій тест-системі використовується принцип конкурентного імуноферментного аналізу. У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (сироватковий альбумін) вносять досліджуваний зразок та кон'югат (анти-альбумін антитіла, мічені пероксидазою). Альбумін із зразка конкурує з кон'югатом за зв'язок з антигеном на поверхні лунки. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату та вимірюється при довжині хвилі 450 нм. Інтенсивність кольорової реакції зворотно пропорційна кількості альбуміну в зразку.

**Клінічне значення**

Найбільш раннім критерієм розвитку діабетичної нефропатії (до появи протеїнурії) є МІКРОАЛЬБУМІНУРІЯ. Під цим терміном мають на увазі екскрецію альбуміну із сечею, що перевищує припустимі нормальні значення, але не досягаючи ступеня протеїнурії. У нормі екскретується не більш 30 мг альбуміну за добу, що еквівалентно концентрації альбуміну менш 20 мкг/мл у разовому аналізі сечі. З появою протеїнурії екскреція альбуміну із сечею перевищує 300 мг/доб. Тому діапазон мікроальбумінурії складає від 30 до 300 мг/доб чи 20 до 200 мкг/мл. Поява в хворого цукровим діабетом постійної мікроальбумінурії свідчить про швидкий розвиток (протягом найближчих 5-7 років) вираженої стадії діабетичної нефропатії.

Якщо при разовому аналізі сечі неодноразово виявляється концентрація альбуміну більш 20 мкг/мл, то потрібно дослідження добової сечі. При виявленні в сечі, зібраної за добу, концентрації альбуміну більш 30 мг, і це значення підтверджується в наступних аналізах сечі, повторених через 6 і 12 тижнів, варто виставляти діагноз ДІАБЕТИЧНА НЕФРОПАТІЯ і починати превентивне лікування. Однак варто мати на увазі, що екскреція альбуміну із сечею може підвищуватися після інтенсивних фізичних навантажень, при інфекції сечовивідних шляхів і застійної серцевої недостатності.

**Склад набору**

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для клеювання планшет (1 шт.)
3. Набір калібраторів та контролю по 0.15 мл (всього 5 калібраторів: 0, 4, 40, 200, 400 мкг/мл; 1 контроль)
4. Фосфатно-сольовий буфер (ФСБ) концентрат 10 х, 30 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 мл (1 фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

### Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 0.5 мкг/мл.

Очікуванні коливання контролю: 15-25 мкг/мл.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

### Матеріал для дослідження

З ранкової порції сечі або з добової сечі відбирають 1 мл. Зберігають зразки не більше 24 годин при +4...+10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не рекомендуються.

### Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

### Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте необхідну кількість розчину ФСБ. Для цього концентрат розбавте 10-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 4-10°C.

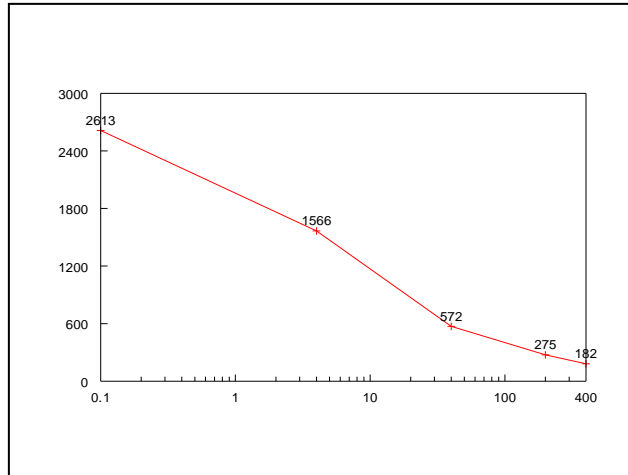
### Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 90 мкл розчину ФСБ.
3. Внесіть у лунки 10 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
4. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
5. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 20-25°C, періодично струшуючи або на шейкері.
6. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
7. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
8. Інкубуйте **15-20** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
9. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
10. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
11. Використовуйте лінійно-логарифмічний метод обчислювання значень.
12. Визначте концентрацію альбуміну в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

### Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

**Приклад калібрувальної кривої** (вісь X – концентрація, мкг/мл; вісь Y – ОЩ)  
Не використовувати для обчислювання!



### Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Екскреція альбуміна з сечею	Концентрація альбуміну		
	Нормоальбумінурія	<20 мкг/мл	<30 мг/доб
Мікроальбумінурія	20-200 мкг/мл	30-300 мг/доб	20-200 мкг/хв
Макроальбумінурія	>200 мкг/мл	>300 мг/доб	>200 мкг/хв

### Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

### Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 4-10°C. Не допускається замороження!

Після розкриття пакета **ретельно заклейте** лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

### Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"  
61050, м. Харків  
вул. Юр'ївська, 17  
т/ф (057) 768-07-14

**Паспорт**  
Тест-система для визначення  
концентрації альбуміну в сечі

### Альбумін-ІФА

#### IN VITRO

Серія **722/2**

Дата виготовлення **18.07.2013**

Термін придатності **18.01.2014**

Зберігати при 4-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
<b>1. Показники правильності визначення</b>				
1.1	Чутливість не менш, мкг/мл	0.5		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, мкг/мл	15-25		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
<b>2. Зовнішній вигляд, комплектація</b>				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Набір калібраторів та контролю (всього 5 калібраторів: 0, 4, 40, 200, 400 мкг/мл; 1 контроль)	жовтий	6 фл. x 0.15 мл	відповідає
2.4	Фосфатно-сольовий буфер(ФСБ) концентрат 10х, 30 мл	прозорий	1 фл. x 30 мл	відповідає
2.5	Кон'югат	червоний	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.6	Субстрат	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає
2.7	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. x 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002