

Надосадочный слой перенести в кювету фотометра и измерить величину оптической плотности контрольных и опытных проб против физиологического раствора при длине волн 540 (500–560) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм или 5 мм.

РАСЧЕТЫ

Величину β-АРМ рассчитать по формуле:

$$\beta\text{-АРМ} = \frac{E_{01} + E_{02}}{E_{K1} + E_{K2}} \times 100\%,$$

где: β-АРМ – величина показателя адренореактивности, усл.ед.;
E₀₁ и E₀₂ – оптические плотности опытных проб, ед.опт.плотн.;
E_{K1} и E_{K2} – оптические плотности контрольных проб, ед.опт.плотн.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8° С в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25° С не более 5 суток.

Срок годности набора – 1 год.

Буфер может храниться в укупоренном виде при температуре +2–8° С не более 1 месяца.

Раствор адренореактивного вещества и антикоагулянт после вскрытия фляконов могут храниться в укупоренном виде при температуре +2–8° С не более 1 месяца.

Величина оптической плотности в контрольных пробах должна находиться в пределах 0,4–1,3 ед.опт.плотн. для кювет с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм (0,2–0,65 ед.опт.плотн. для кювет с толщиной поглощающего свет слоя 5 мм). При величинах оптической плотности менее 0,4 (или 0,2, соответственно) ед.опт.плотн., то есть при низкой величине осмолязва исходных эритроцитов, величина β-АРМ не может быть определена.

По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО «Агат–Мед». Телефон для справок: (495) 777-41-92.

Инструкция составлена: вед. н. с. ГНИИ Военной медицины МО РФ, доктором биол. наук И.Г. Длусской; профессором кафедры пропедевтики внутренних болезней РГМСУ, вед. н. с. РНЦ Восстановительной медицины и курортологии, доктором мед. наук Р.И. Стрюк; к.б.н. зав. лабораторией ГНЦ РАМН, И.В. Смирновым; главным технологом ООО «Агат–Мед» В.В. Гладуном.



Клиническая
биохимия

БЕТА-АРМ АГАТ

105173, Москва, ул. Западная,
д. 2, стр. 1, ООО «Агат–Мед».
Тел.: (495) 777-41-92.
Факс: (495) 741-25-19.
www.agat.ru agat@agat.ru

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Департамента государственного контроля
лекарственных средств и медицинской техники МЗ РФ

В.Е. Акимочкин

31 декабря 2002 г.

Рекомендована к утверждению
экспертной комиссией по лабораторным реагентам
Комитета по новой медицинской технике МЗ РФ
(протокол № 2 от 25 марта 2002 г.)

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов для определения бета-адренореактивности организма по изменению осморезистентности эритроцитов под влиянием бета-адреноблокатора

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов бета-АРМ-Агат предназначен для определения β-адренореактивности организма на модели эритроцитов в малом объеме венозной или периферической крови (0,2 мл) методом, основанным на изменении осмотической резистентности эритроцитов под влиянием β-адреноблокатора.

Этот метод оценки адренореактивности может быть использован в целях:

– диагностики гиперадренергических состояний (при нейроциркуляторной дистонии и невротических нарушениях, гиперадренергической форме гипертонической болезни и др.);

– прогноза осложненного течения сердечно-сосудистых заболеваний (инфаркт миокарда, прогрессирующая стенокардия);

– оценки индивидуальной чувствительности к β-адреноблокаторам;

– профессионального отбора лиц, занятых интеллектуальным трудом.

Набор рассчитан на проведение анализа 25 проб в дубликатах (всего 50 определений).

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Метод основан на факте торможения гемолиза эритроцитов, помещенных в гипоосмотическую среду, в присутствии β-адреноблокатора – 1-(1-изопропиламино)-3-(1-нафтальенил-окси)-2-пропанола гидрохлорида. Эритроциты человека, помещенные в гипоосмотическую среду, подвергаются гемолизу, степень которого определяют по величине оптической плотности надосадочной жидкости при длине волны 540 нм (контроль). В опытную пробу с аналогичным раствором гипоосмотического буфера добавляют раствор β-адреноблокатора, который связывается с β-рецепторами клеточной мембранны, снижая степень

гемолиза. Величину оптической плотности надосадочной жидкости опытной пробы при длине волны 540 нм выражают в процентах от величины оптической плотности контрольной пробы; единицы процентов принимают за условные единицы β -АРМ (усл.ед.).

СОСТАВ НАБОРА

- Концентрат буфера** (натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный – 17,9 г/л, натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный – 11,7 г/л, натрий хлористый – 106,3 г/л), 10 мл – 1 флакон;
- Раствор адреноактивного вещества** (1-(1-изопропиламино)-3-(1-нафтапенил-окси)-2-пропанола гидрохлорид – 7,5 г/л), 5,0 мл – 1 флакон;
- Антикоагулянт** (этапендиамин-N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты динатриевая соль, 0,5 моль/л, pH 7,4), 5,0 мл – 1 флакон.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Воспроизводимость: коэффициент вариации не более 10%.

Нормальные величины показателя адренореактивности (β -АРМ) у 93% практически здоровых лиц находятся в диапазоне от 2,0 до 20,0 усл.ед., что отражает повышение осморезистентности эритроцитов в результате связывания адреноблокатора с β -адренорецепторами.

При сниженной адренореактивности количество β -адренорецепторов на мембранах эритроцитов снижено (десенситизация), связывание адреноблокатора уменьшается и осморезистентность эритроцитов повышается в меньшей степени. В соответствии с условиями метода определения, величины β -АРМ при этом превышают 20 усл.ед.

Показатель β -АРМ в условиях амбулаторного обследования, при соблюдении пациентом привычного режима труда и отдыха индивидуально стабилен в течение многих месяцев.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин у обследуемого контингента.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

При работе с набором необходимо соблюдать правила техники безопасности, рекомендуемые при работе с кровью в соответствии с «Инструкцией по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебных и профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17.01.91 г., и «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (М., 1981 г.).

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, длина волны 540 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 500–560 нм (зеленый светофильтр), кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм;
- центрифуга лабораторная с горизонтальным ротором на 1500 об/мин;

- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05; 0,1; 0,2 и 2,5 мл;
- колба мерная вместимостью 250 мл;
- пробирки пластиковые вместимостью 1,5–5,0 мл;
- пробирки центрифужные вместимостью 5–10 мл;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% раствор натрия хлористого);
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Цельная венозная или периферическая кровь.

Взятие крови:

Вариант 1. 0,2 мл периферической крови из прокола пальца отбирают стеклянной пипеткой, пипетку перед каждым заполнением промывают антикоагулянтом. Кровь должна вытекать без сильного сдавливания пальца.

Вариант 2. Кровь из вены (свободно вытекающую из иглы) собирают в пробирку, содержащую антикоагулянт из расчета 0,1 мл на 5,0 мл крови.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Приготовление буфера. Содержимое флакона с концентратом буферного раствора количественно перенести в мерную колбу вместимостью 250 мл, довести до метки дистиллированной водой и тщательно перемешать.

Буфер можно хранить при температуре +2–8° С не более 1 месяца.

Перед работой нужный объем буфера отобрать и выдержать при комнатной температуре (+18–25° С).

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

0,2 мл цельной крови с антикоагулянтом добавить к 0,2 мл физиологического раствора и перемешать, избегая пенообразования. Приготовленный таким образом образец крови годится для дальнейшей обработки в течение 3-х часов при комнатной температуре.

Если периферическая кровь свертывается в первые минуты после разбавления, взятие следует повторить, добавив в физиологический раствор 0,02 мл антикоагулянта.

В центрифужные пробирки внести реагенты по следующей схеме (по две контрольные и две опытные пробы на каждый анализируемый образец крови):

	Контрольная пробы, мл		Опытная пробы, мл	
	1	2	1	2
Буфер	2,5	2,5	2,5	2,5
Раствор адренореактивного вещества	-	-	0,1	0,1
Вода дистиллированная	0,1	0,1	-	-
Перемешать				
Образец крови	0,05	0,05	0,05	0,05
Перемешать без пенообразования				
Инкубировать 15 минут при комнатной температуре				
Перемешать без пенообразования				
Инкубировать 15 минут при комнатной температуре				
Центрифугировать 10 минут при 1500 об/мин.				