

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ (КАТ.№№ В-30211, В-30212, В-30213, В-30214)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для колориметрического количественного определения содержания гемоглобина в крови в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 600, 800, 1000 и 1600 определений при расходе трансформирующего раствора 5 мл на 1 определение.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Под действием железосинеродистого калия (гексацианоферрита калия) гемоглобин окисляется в метгемоглобин, который образует с ацетонциангидрином окрашенный цианметгемоглобин (гемиглобинцианид). Интенсивность окраски раствора пропорциональна содержанию гемоглобина в крови.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). Калий железосинеродистый, натрий двууглекислый.

Реагент 2 (Р2). Ацетонциангидрин.

Калибратор гемиглобинцианида, 130 г/л.

Кат.№	Фасовка
В-30212	Р1 1x30 мл + Р2 1x1,5 мл + калибратор 5 мл
В-30211	Р1 1x40 мл + Р2 1x2 мл + калибратор 5 мл
В-30214	Р1 1x50 мл + Р2 1x2,5 мл + калибратор 5 мл
В-30213	Р1 1x80 мл + Р2 1x4 мл + калибратор 5 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 20 г/л.

Линейность – от 30 до 200 г/л с отклонением не более 2%.

Коэффициент вариации – не более 2%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

В состав набора входят ядовитые вещества: ацетонциангидрин и калий железосинеродистый. Не допускать попадания реагентов внутрь. Избегать контакта реагентов с кожей и слизистой глаз. В случае попадания ядовитых веществ внутрь срочно вызвать рвоту (использовав раствор поваренной соли – 1 столовая ложка на стакан воды – или другое рвотное средство) и сделать промывание желудка 1% раствором перекиси водорода или 0,02% раствором перманганата калия. При попадании на кожу и слизистую глаз промыть большим количеством воды. Затем в обоих случаях обратиться к врачу. При работе с биологическим материалом следует пользоваться резиновыми перчатками.

ОБОРУДОВАНИЕ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр или гемоглобинометр любого типа, пипеточные дозаторы, позволяющие отбирать объёмы 0,02 мл и 5,0 мл, секундомер.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Свежая кровь.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Приготовление трансформирующего раствора

К 10 мл реагента 1 добавить 0,5 мл реагента 2 и довести объём дистиллированной водой до 1 л. Трансформирующий раствор стабилен при хранении в темноте при 2-25°C в течение 3 месяцев. При необходимости можно приготовить трансформирующий раствор в объёме меньше или больше 1 л, изменив отбираемые аликвоты реагентов 1 и 2.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 540 (520-560) нм, зелёный светофильтр.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура реакции 18-25°C.

1. Определение коэффициента пересчёта К
На используемом приборе измерить оптическую плотность (**E**) (или снять показания гемоглобинометра) калибратора гемиглобинцианида относительно трансформирующего раствора. Рассчитать коэффициент пересчёта по формуле:

$$K = 130/E,$$

где **130** – концентрация гемиглобинцианида в калибраторе в пересчёте на гемоглобин, г/л.

E – оптическая плотность калибратора гемиглобинцианида или показания гемоглобинометра.

2. Определение гемоглобина в крови
Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема определения

Раствор	Опытная проба
Трансформирующий раствор, мл	5,0
Образец, мл	0,02

Содержимое пробирок тщательно перемешать и оставить стоять 10 мин. при комнатной температуре. Измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.}$) относительно трансформирующего раствора.

Окраска стабильна не менее 7 часов.

РАСЧЁТ

Содержание гемоглобина в крови рассчитать по формуле:

$$Hb = E_{обр.} \cdot K$$

где **Hb** – концентрация гемоглобина, г/л.

K – коэффициент пересчёта.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Женщины 115-145 г/л

Мужчины 130-160 г/л

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2-8°C в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается замораживание. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре 18-25°C не более 8 часов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лабораторные методы исследования в клинике. Под ред. В.В. Миньшикова, М., 1987, с. 107-108.