

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЖЕЛЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (КАТ.№ В-11151)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 25.12.2009 г. № 10611-Пр/09
РУ № ФСР 2009/06424 от 25.12.2009 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для колориметрического количественного определения содержания железа феррозиновым методом в сыворотке крови человека в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на определение железа в 200 образцах при конечном объёме реакционной смеси 1,3 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В кислой среде Fe^{3+} диссоциирует из белков сыворотки крови и, в присутствии восстановителя, переходит в форму Fe^{2+} . Восстановленное железо образует с феррозином комплексное соединение фиолетового цвета. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации железа в образце.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). Ацетатный буфер – 200 ммоль/л, pH 4,0, гидроксилламин солянокислый – 100 ммоль/л, детергенты, стабилизаторы..... 2x100 мл
Реагент 2 (Р2). Цветообразующий реактив: гидроксилламин солянокислый – 100 ммоль/л, феррозин – 5 ммоль/л, детергенты 20 мл
Калибратор железа (II), 179 мкмоль/л 5 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 5 мкмоль/л

Линейность – от 5 до 107 мкмоль/л с отклонением не более 5%.

Коэффициент вариации – не более 5%.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

При использовании набора следует соблюдать правила техники безопасности при работе с едкими и ядовитыми веществами.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, анализаторы открытого типа, дозаторы, позволяющие отбирать объёмы 0,02-1 мл.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, полученная не позже, чем через два часа после взятия крови.

Содержание железа в сыворотке крови стабильно при хранении в плотно закрытом сосуде при 18-25°C в течение 7 дней, при 4-8°C – 3 недели и при -20°C – неопределённо долго [1, 2].

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 570 (540-590) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 37°C.

Приготовить пробы в соответствии со схемами определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема определения 1

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Реагент 1, мл	1,0	1,0	1,0
Деионизованная вода, мл	–	–	0,3
Калибратор, мл	–	0,2	–
Образец, мл	0,2	–	–

Все пробы перемешать и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.1}$) относительно холостой пробы.

Реагент 2, мл	0,1	0,1	–
---------------	-----	-----	---

Все пробы перемешать, выдержать при температуре 37°C в течение 10 мин. и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.2}$) и калибровочной пробы ($E_{кал.}$) относительно холостой пробы.

Окраска стабильна в течение 60 минут.

Схема определения 2 (для полуавтоматических анализаторов; дифференциальный режим)

Раствор	Опытная проба	Холостая проба для сыворотки	Калибровочная проба	Холостая проба для калибратора
Реагент 1, мл	1,0	1,0	1,0	1,0
Калибратор, мл	–	–	0,2	–
Деионизованная вода, мл	–	0,1	–	0,3
Образец, мл	0,2	0,2	–	–
Реагент 2, мл	0,1	–	0,1	–

Все пробы перемешать, выдержать при температуре 37°C в течение 15 мин. и измерить оптическую плотность опытной пробы ($E_{обр.}$) относительно холостой пробы для сыворотки и калибровочной пробы ($E_{кал.}$) относительно холостой пробы для калибратора.

Окраска стабильна в течение 60 минут.

РАСЧЁТ

Концентрацию железа **C** рассчитать по формулам:
для схемы 1

$$C = \left(\frac{E_{\text{обр.2}} - E_{\text{обр.1}}}{E_{\text{кал.}}} \right) \cdot 17,9 \text{ мкмоль/л}$$

для схемы 2

$$C = \left(\frac{E_{\text{обр.}}}{E_{\text{кал.}}} \right) \cdot 17,9 \text{ мкмоль/л}$$

где **17,9** мкмоль/л - концентрация железа в калибраторе.

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	схема 1: Конечная точка схема 2: Конечная точка (дифференциальный режим)
Длина волны, нм	570
Дополнительная длина волны (дифференциальная), нм	600-700
Измерение против	Холостой пробы
Температура реакции	37°C
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, мкмоль/л	179
Соотношение реагент/проба	5:1
Время реакции, сек	600
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0
Границы линейности, мкмоль/л	5-107
Максимум нормы, мкмоль/л	28,6*
Минимум нормы, мкмоль/л	10,7*

*Приведены нормальные значения для мужчин.

В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-Железо» на вашем анализаторе.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При содержании железа в образце выше 107 мкмоль/л образец развести физиологическим раствором в два раза (или больше). Анализ повторить, полученный результат умножить на коэффициент разведения.
2. Использовать только бидистиллированную или деионизованную воду. Все используемые при анализе материалы не должны содержать следов железа.
3. Лабораторную посуду перед анализом вымыть раствором HCl (4 моль/л) и тщательно ополоснуть бидистиллированной или деионизованной водой. Предпочтительнее использовать одноразовую пластиковую посуду.

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Женщины 7,6-26,0 мкмоль/л
Мужчины 10,7-28,6 мкмоль/л

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в тёмном месте при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, "Лабинформ".
2. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Под ред. проф. Н.У. Тица, М., 1997, "Лабинформ".