

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕНАСЫЩЕННОЙ ЖЕЛЕЗОСВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (КАТ.№ В-11171)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для колориметрического количественного определения ненасыщенной железосвязывающей способности феррозиновым методом в сыворотке крови в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на определение насыщенной железосвязывающей способности в 100 образцах при конечном объеме реакционной смеси 1,5 мл.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определяемое в сыворотке крови железо связано с белком β-глобулиновой фракции – трансферрином. В норме этот белок насыщен железом приблизительно на 30%. Максимальное количество железа, которое может присоединять трансферрин до своего насыщения, обозначается как общая железосвязывающая способность сыворотки (**ОЖСС**). **ОЖСС** складывается из насыщенной железом части трансферрина (содержание сывороточного железа **С**) и ненасыщенной – **НЖСС**.

При добавлении раствора соли Fe²⁺ с известной концентрацией к сыворотке крови в щелочной среде происходит заполнение ненасыщенной области трансферрина. Уменьшение концентрации Fe²⁺ в добавленном растворе численно равно величине **НЖСС**.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). Трис-буфер – 0,2 моль/л, рН 8,1, детергенты, стабилизаторы..... 100 мл
 Реагент 2 (Р2). Цветообразующий реактив: гидроксилламин солянокислый – 100 ммоль/л, феррозин – 20 ммоль/л, детергенты 10 мл
 Калибратор железа (II) – насыщающий раствор, 89,5 мкмоль/л: соль Мора, гидроксилламин солянокислый 20 мл

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность – не более 5 мкмоль/л
Линейность – от 5 до 89 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, полуавтоматические анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объемы 0,02-1 мл.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

Содержание железа и ОЖСС 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 – неопределенно 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 (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

Схема определения

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Реагент 1, мл	1,0	1,0	1,0
Деионизованная вода, мл	–	0,2	0,4
Калибратор, мл	0,2	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	0,1
---------------	-----	-----	-----

Все пробы перемешать, выдержать при температуре 37°C в течение 15 мин. и измерить оптические плотности опытной пробы (E_{обр.2}) и калибровочной пробы (E_{кал.}) относительно холостой пробы.

Окраска стабильна в течение 60 минут.

РАСЧЁТ

$$\text{НЖСС} = \left(1 - \frac{E_{\text{обр.2}} - E_{\text{обр.1}}}{E_{\text{кал.}}}\right) \cdot 89,5, \text{ мкмоль/л}$$

или

$$\text{НЖСС} = \left(1 - \frac{E_{\text{обр.2}} - E_{\text{обр.1}}}{E_{\text{кал.}}}\right) \cdot 500, \text{ мкг/л}$$

где **89,5** мкмоль/л и **500** мкг/л – концентрация железа в калибраторе.

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Абсорбция
Длина волны, нм	570
Дополнительная длина волны (дифференциальная), нм	600-700
Измерение против	Реагента
Температура реакции	37°C
Единица измерения	мкмоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, мкмоль/л	89,5
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	5-89
Максимум нормы, мкмоль/л	45
Минимум нормы, мкмоль/л	27

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Сыворотки с высокой степенью ненасыщенности трансферрина могут иногда давать низкие величины оптической плотности. Такие образцы следует развести физиологическим раствором в 2 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.
4. Желательно проводить анализ с использованием дополнительной (отсекающей или дифференциальной) длины волны 600-700 нм (в зависимости от прибора).

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно

НЖСС	27-45 мкмоль/л 150-250 мкг/100 мл
ОЖСС	36-72 мкмоль/л 200-400 мкг/100 мл
Степень насыщения	20-55%

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 тёмном месте в течение всего срока годности набора.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по отечественным или зарубежным 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".