

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2010 г. № _____ -Пр/010



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей компании

ООО «Эйлитон» - ООО «Юнимед-менеджмент»

А.Н.Шибанов

2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению реагентов для количественного определения содержания железа в сыворотке или плазме крови человека феррозиновым методом «ЖЕЛЕЗО-ФЗ - UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

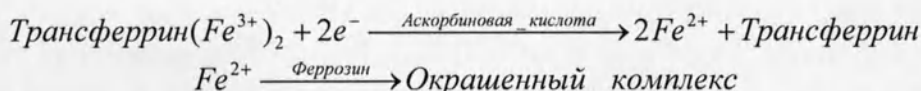
1.1. Набор предназначен для количественного определения содержания железа в сыворотке или плазме крови человека колориметрическим феррозиновым методом в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор выпускается в четырех видах фасовки и рассчитан на проведение 100, 200, 400 или 500 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

2.1.1 Ионы железа Fe^{3+} в слабокислой среде высвобождаются из переносящего железо белка трансферрина. Высвободившиеся ионы Fe^{3+} восстанавливаются в двухвалентную форму Fe^{2+} с помощью аскорбиновой кислоты. Ионы Fe^{2+} в реакции с феррозином образуют окрашенный комплекс по следующей схеме:



Интенсивность образовавшейся окраски прямо пропорциональна концентрации железа в исследуемом образце.

2.1.2. Фотометрическое измерение основано на наличии максимума поглощения света на длине волны 562 нм молекулами окрашенного комплекса. Все остальные компоненты реакционной смеси слабо поглощают свет на этой длине волны. Таким образом, увеличение оптической плотности реакционной смеси на длине волны 562 (530-590) нм пропорционально содержанию железа в пробе.

2.2. Клиническая диагностика

2.2.1. Железо – это компонент, входящий в состав большого количества ферментов и белков. Железо входит в состав гемоглобина, молекулы которого участвуют в доставке и переносе кислорода клеткам тканей человека. Недостаток железа вызывает «железодефицитное состояние» - одно из наиболее распространенных заболеваний человека. Высокий уровень железа обнаруживается при наследственном гемохроматозе, циррозе, гепатите и при повышенном содержании трансферрина.

2.2.2. Клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, он должен объединять как клинические, так и лабораторные данные.

2.3. Состав набора

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 Р1 (буфер)	Ацетатный буфер, pH 4,9	100 ммоль/л
Реагент 2 Р2 (восстановитель)	Аскорбиновая кислота (порошок)	4х50 мг
Реагент 2 Р3 (хромоген)	Феррозин	40 ммоль/л
Калибратор	Водный раствор $FeCl_3$	17,9 мкмоль/л (100 мкг/100мл)

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения содержания железа в диапазоне 1 мкмоль/л (5,6 мкг/100 мл) до 180 мкмоль/л (1000 мкг/100 мл), отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность – не более 1 мкмоль/л (5,6 мкг/100 мл), коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.2. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

3.3. Нормальные величины содержания железа в сыворотке или плазме крови составляют:

у мужчин 11,6-31,3 мкмоль/л (65-175 мкг/100 мл);*

у женщин 7,16-26,85 мкмоль/л (40-150 мкг/100 мл);*

3.4. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

*Результаты сильно зависят от точности выполнения метода.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1.
- 4.2. Реагенты 1 и 2 содержат кислоты, реагент 3 - феррозин. Следует избегать попадания реагентов на кожу и слизистые. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.
- 4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).
- 4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- 5.1. Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 570 нм (550-590), кювета с длиной оптического пути 10 мм*;
- 5.2. Дозаторы для отбора жидкостей объемом 10 и 1000 мкл.**
- 5.3. Термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 0,5$ °C.
- 5.4. Пробирки пластиковые или стеклянные объемом не менее 2 мл***
- 5.5. Вода дистиллированная.
- 5.6. Физиологический раствор (NaCl 9 г/л).

*При использовании биохимического анализатора с ненормированной длиной оптического пути требуется калибровка по сывороточным калибраторам, аттестованным по значению содержания кальция.

**Рекомендуется использовать одноразовые пластиковые расходные материалы.

***Рекомендуется использовать одноразовые материалы. При использовании стеклянной посуды она должна быть выдержана в течение 6 часов в растворе HCl (20%) и затем тщательно ополоснута дистиллированной водой и высушена перед использованием.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- 6.1. Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови как можно быстрее после забора крови. Образцы стабильны 7 дней при 2 – 8 °C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

- 7.1. Рабочий реагент готовится разведением содержимого одного флакона восстанавливающего реагента Р2 в одном флаконе буфера (Р1). Закройте флакон крышкой и тщательно перемешайте до полного растворения содержимого. Рабочий реагент стабилен 1 месяц при 15-25 °C, 3 месяца при 2 - 8 °C.

- 7.2. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице:

Объем, мкл	Холостая по реагенту	Холостая по пробе	Калибровочная проба	Анализируемая проба
Рабочий реагент	1000	1000	1000	1000
Реагент 3	50	-	50	50
Калибратор	-	-	200	-
H ₂ O	200	-	-	-
Анализируемый образец	-	200	-	200

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение рабочий реагент: Р3: сыворотка составляет 10 : 5-6 : 20).

- 7.3. Пробы перемешать и инкубировать в течение 5 минут при 15 – 25 °C или 37 °C.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

- 8.1. Измерить оптические плотности: калибровочной пробы ($A_{\text{кал}}$), а также анализируемой пробы ($A_{\text{обр}}$) и холостой пробы по образцу ($A_{\text{хол/обр}}$) при длине волны 562 (530-590) нм против холостой пробы по рабочему реагенту ($A_{\text{хол/реагент}}$). Окраска проб стабильна в течение 30 минут.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

- 9.1 Содержание железа в сыворотке или плазме крови человека (мкмоль/л) определить по формуле:

- $A_{обр}$ - оптическая плотность анализируемой пробы против холостой пробы по реагенту ($A_{хол/реагент}$) ед.опт.пл.;
- $A_{хол/обр}$ - оптическая плотность холостой пробы по образцу против холостой пробы по реагенту ($A_{хол/реагент}$) ед.опт.пл.;
- $A_{кал}$ - оптическая плотность калибровочной пробы против холостой пробы по реагенту ($A_{хол/реагент}$) ед. опт.пл.;
- $C_{кал}$ - содержание железа в калибраторе, равно $17,9$ мкмоль/л

9.3. Если результаты измерений превышают предел линейности, анализируемый образец следует развести физиологическим раствором (9 г/л) в 2 раза, провести повторные измерения и полученный результат определения умножить на 2.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ЖЕЛЕЗО-ФЗ - UTS» должен храниться в темном месте, при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

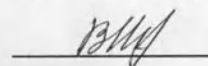
10.2. Срок годности набора - 18 месяцев.

10.3. Калибратор после вскрытия флакона может храниться при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в плотно закрытом флаконе в темном месте в течение 1 месяца и соблюдением мер против контаминации при его использовании.

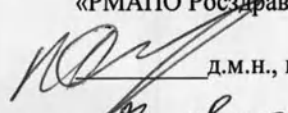
10.4. При загрязнении реагента, его помутнении или при оптической плотности ($A_{хол}$) при 562 нм $>0,05$ ед. опт. плотн. (при использовании кювет с длиной оптического пути 10 мм) реагент не годен к употреблению

10.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Руководитель отдела производства реагентов
ООО «ЭЙЛИТОН»

 Нечаев В.Н.

«Согласовано»
зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГОУ ДПО
«РМАПО Росздравнадзора»

 д.м.н., профессор Долгов В.В.

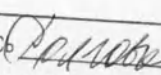
«03» августа 2010 г

По вопросам, касающимся качества набора «ЖЕЛЕЗО-ФЗ - UTS» следует обращаться в ЗАО «А/О Юнимед» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31.

Факс: (495) 564-86-41.

E-mail: office@unimeda.ru

<http://www.unimeda.ru>

Подпись 
удостоверяю: специалист
кадровой работы ГОУ
РМАПО Росздрава
подпись: 