

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2017 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения
концентрации железа в сыворотке и плазме крови
(Железо-Ново-А)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации железа в сыворотке и плазме крови «Железо-Ново-А» (далее по тексту набор) предназначен для определения содержания железа в сыворотке и плазме крови человека колориметрическим методом без депротеинизации.

1.2. Набор выпускается в семи вариантах комплектации, рассчитанных на:

- 400 определений при расходе 0,50 мл реагента 1 на одно определение (Железо-Ново-А (200));
- 800 определений при расходе 0,50 мл реагента 1 на одно определение (Железо-Ново-А (400));
- 650 определений при расходе 0,20 мл реагента 1 на одно определение (Железо-Ново-А (Сапфир 400-24));
- 620 определений при расходе 0,20 мл реагента 1 на одно определение (Железо-Ново-А (Сапфир 400-36));
- 870 определений при расходе 0,20 мл реагента 1 на одно определение (Железо-Ново-А (Миура));
- 1950 определений при расходе 0,16 мл реагента 1 на одно определение (Железо-Ново-А (Таурус));
- 1200 определений при расходе 0,20 мл реагента 1 на одно определение (Железо-Ново-А (ВА400)).

Количество определений зависит от объема фасовки (варианта комплектации) и используемого биохимического анализатора при сохранении соотношения образец: реагент 1: реагент 2.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой, в.н.с. Т.И. Суменко.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Ионы железа (Fe^{3+}) в кислой среде освобождаются из комплекса с трансферрином и под действием аскорбиновой кислоты восстанавливаются до ионов Fe^{2+} . Восстановленное железо образует с феррозином комплексное соединение сиреневого цвета. Интенсивность окраски образовавшегося комплекса пропорциональна концентрации железа в исследуемом образце и определяется колориметрически при длине волны 560 (540-570) нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- реагент 1: ацетатный буферный раствор, pH $4,5 \pm 0,2$, содержащий уксусную кислоту, натрия гидроокись, гуанидина гидрохлорид, тиомочевину, гидроксиламина гидрохлорид;
- реагент 2: раствор, содержащий гидроксиламина гидрохлорид, аскорбиновую кислоту, тиомочевину, натрия азид, феррозин;
- калибратор с концентрацией железа двухвалентного 20,0 мкмоль/л, аттестованный относительно стандартного референтного материала SRM 937 (NIST, США), натрия азид, готовый к использованию;

в следующих вариантах комплектации:

1. «Железо-Ново-А (200)»:

- реагент 1: 4 флакона (по 50 мл);
- реагент 2: 2 флакона (по 25 мл);
- калибратор: 1 флакон (5,0 мл);

2. «Железо-Ново-А (400)»:

- реагент 1: 2 флакона (по 200 мл);
- реагент 2: 2 флакона (по 50 мл);
- калибратор: 1 флакон (7,0 мл);

3. «Железо-Ново-А (Сапфир 400-24)»:

- реагент 1: 4 флакона (по 36 мл);
- реагент 2: 2 флакона (по 20 мл);
- калибратор: 1 флакон (5,0 мл);

4. «Железо-Ново-А (Сапфир 400-36)»:

- реагент 1: 6 флаконов (по 23 мл);
- реагент 2: 3 флакона (по 13 мл);
- калибратор: 1 флакон (5,0 мл);

5. «Железо-Ново-А (Миура)»:

- реагент 1: 4 флакона (по 48 мл);
- реагент 2: 4 флакона (по 14 мл);
- калибратор: 1 флакон (5,0 мл);

6. «Железо-Ново-А (Таурус)»:
- реагент 1: 4 флакона (по 78 мл);
 - реагент 2: 2 флакона (по 42 мл);
 - калибратор: 1 флакон (5,0 мл);
7. «Железо-Ново-А (ВА400)»:
- реагент 1: 4 флакона (по 60 мл);
 - реагент 2: 3 флакона (по 20 мл);
 - калибратор: 1 флакон (5,0 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- 3.1. *Чувствительность – не более 0,5 мкмоль/л.
- 3.2. *Линейность в диапазоне концентраций железа 2,0-200,0 мкмоль/л – отклонение не более 5%.
- 3.3. *Тест на «открытие» – отклонение не более 5%.
- 3.4. *Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5 %.
- 3.5.* Допустимый разброс результатов при параллельных определениях одной пробы разными наборами одной серии - не более 5%.
- 3.6. Диапазон измерения – 0,5-200 мкмоль/л
- 3.7. Нормальные величины концентрации железа в сыворотке и плазме крови:
- женщины – 8,8-27,0 мкмоль/л;
 - мужчины – 9,5-30,0 мкмоль/л.
- 3.8. Рекомендуются в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации железа у обследуемого контингента людей.

*В соответствии с ГОСТ Р 51352-2013.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).
- 4.2. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и в методических указаниях МУ 287-113 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998 г).
- 4.3. 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 и передавать ВИЧ, вирус гепатита или

любой другой возбудитель вирусных инфекций.

4.4. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.5. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.6. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными материалами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество анализа, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

4.7. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ:

– биохимический анализатор (длина волны 560 (540-570) нм, кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм) (для вариантов комплектации «Железо-Ново-А (200)» и «Железо-Ново-А (400)»);

– биохимический анализатор Sapphire 400-24 (для варианта комплектации «Железо-Ново-А (Сапфир 400-24)»);

– биохимический анализатор Sapphire 400-36 (для варианта комплектации «Железо-Ново-А (Сапфир 400-36)»);

– биохимический анализатор MIURA (для варианта комплектации «Железо-Ново-А (Миура)»);

– биохимический анализатор ILab Taurus (для варианта комплектации «Железо-Ново-А (Таурус)»);

– биохимический анализатор ВА 400* (для варианта комплектации «Железо-Ново-А (ВА400)»);

– дозаторы механические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 20-200 мкл и 100-1000 мкл;

– пробирки пластиковые вместимостью 1,5 мл (для вариантов комплектации «Железо-Ново-А (200)» и «Железо-Ново-А (400)»);

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– вода дистиллированная;

– термостат (для вариантов комплектации «Железо-Ново-А (200)» и «Железо-Ново-А

(400)»);

- таймер (для вариантов комплектации «Железо-Ново-А (200)» и «Железо-Ново-А (400)»);
- дезинфицирующий раствор.

* Примечание. Допускается применение оборудования другого типа, по своим характеристикам не уступающего рекомендуемому.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при комнатной температуре от 18 до 25 °С не более 7 сут., при температуре от 2 до 8 °С не более 3 нед. или при температуре минус 20 °С и ниже не более 3 мес. Повторное замораживание образцов сыворотки, плазмы крови не рекомендуется.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1. Реагент 1, реагент 2 и калибратор готовы к использованию.

Реагент 1 и калибратор после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности, реагент 2 после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

7.2. Перед началом работы реагенты нагреть до температуры анализа от 18 до 25 °С (для вариантов комплектации «Железо-Ново-А (200)» и «Железо-Ново-А (400)» или $37 \pm 0,5$ °С (для всех вариантов комплектации)). На протяжении всего анализа поддерживать температуру пробы от 18 до 25 °С или $37 \pm 0,5$ °С, соответственно.

7.3. Компоненты реакционной смеси отобрать в количествах, указанных в таблице.

Таблица

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Реагент 1	0,5	0,5	0,5
Вода дистиллированная			0,1
Калибратор		0,1	
Сыворотка, плазма крови	0,1		
Пробы перемешать, выдержать 1-5 мин и измерить оптическую плотность опытной ($E_{оп.1}$) и калибровочной ($E_{к.1}$) проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 560 (540-570) нм .			
Реагент 2	0,125	0,125	0,125
Пробы перемешать и выдержать 5 мин при 37 °С или 10 мин при температуре от 18 до 25 °С. Измерить оптическую плотность опытной ($E_{оп.2}$) и калибровочной ($E_{к.2}$) проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 560 (540-570) нм. Окраска стабильна в течение 1 часа.			

Примечание. В зависимости от объема используемой кюветы количество реагентов и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (при сохранении соотношения образец: реагент1 : реагент 2 – 1:5:1,25).

8. РАСЧЁТЫ

Концентрацию железа в сыворотке, плазме крови (C , мкмоль/л) определить по формуле:

$$C_{РКП} = \frac{E_{ОП2} - 0,83 \times E_{ОП1}}{E_{КАЛ2} - 0,83 \times E_{КАЛ1}} \times C_{КАЛ},$$

где: $E_{ОП1}$ – оптическая плотность первого измерения опытной пробы, ед. опт. плотн.;

$E_{ОП2}$ – оптическая плотность второго измерения опытной пробы, ед. опт. плотн.;

$E_{КАЛ1}$ – оптическая плотность первого измерения калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

$E_{КАЛ2}$ – оптическая плотность второго измерения калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

$C_{кал}$ – концентрация железа в калибраторе, мкмоль/л;

0,83 – коэффициент учета разбавления при добавлении реагента 2.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока годности.

9.4. Реагент 1 и калибратор после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности.

9.5. Реагент 2 после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

9.6. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

9.7. Для калибровки можно использовать калибратор на основе сыворотки крови, зарегистрированный в Российской Федерации, аттестованный данным методом относительно сертифицированного референтного материала или референтного метода.

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

Примечание. В зависимости от объема используемой кюветы количество реагентов и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (при сохранении соотношения образец: реагент1 : реагент 2 – 1:5:1,25).

8. РАСЧЁТЫ

Концентрацию железа в сыворотке, плазме крови (C , мкмоль/л) определить по формуле:

$$C_{РКП} = \frac{E_{ОП2} - 0,83 \times E_{ОП1}}{E_{КАЛ2} - 0,83 \times E_{КАЛ1}} \times C_{КАЛ},$$

где: $E_{ОП1}$ – оптическая плотность первого измерения опытной пробы, ед опт. плотн.;

$E_{ОП2}$ – оптическая плотность второго измерения опытной пробы, ед опт. плотн.;

$E_{КАЛ1}$ – оптическая плотность первого измерения калибровочной пробы, ед опт.

плотн.;

$E_{КАЛ2}$ – оптическая плотность второго измерения калибровочной пробы, ед опт.

плотн.;

$C_{КАЛ}$ – концентрация железа в калибраторе, мкмоль/л;

0,83 – коэффициент учета разбавления при добавлении реагента 2.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока годности.

9.4. Реагент 1 и калибратор после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности.

9.5. Реагент 2 после вскрытия флакона можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

9.6. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

9.7. Для калибровки можно использовать калибратор на основе сыворотки крови, зарегистрированный в Российской Федерации, аттестованный данным методом относительно сертифицированного референтного материала или референтного метода.

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

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируется в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «Железо-Ново-А», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, а/я 121, тел. (383) 363-20-60, 227-67-68, тел./факс (383) 363-35-55.

Вед. научный сотрудник

АО «Вектор-Бест»

Т.И. Суменко

Начальник отдела биохимии

АО «Вектор-Бест», к.б.н.

Г.Е. Яковлева

Ведущий научный сотрудник

ЦНИЛ ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

д.м.н.

Подпись

Заверено

«СОГЛАСОВАНО» Секретарь ФГБОУ ВО БГМУ

Ректор ФГБОУ ВО БГМУ

Минздрава России

член-корреспондент РАН, профессор

Э.Ф. Аглетдинов



В.Н. Павлов

2017 г.

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 7 листов.
Ректор ГБОУ ВО БМУ Минздрава России
член-корреспондент РАН, профессор
Павлов В.Н.
2017 г.

