

УТВЕРЖДЕНО

Приказом Росздравнадзора

от _____

№ _____

КОПИЯ



УТВЕРЖДАЮ

Директор

ООО "Агат-Мед"

Н.Н.Контуганов

"05" 12 2007 г

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения

железа в сыворотке крови

(Железо - Агат)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного колориметрического определения содержания железа в сыворотке крови человека по реакции с динатриевой солью 3-(2-пиридил)-5,6-бис(4-сульфобензил)-1,2,4-триазина (феррозином) без депротенизации в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор рассчитан на проведение 40 определений при общем объеме реакционной смеси 3,52 мл на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Железо освобождается из железосвязывающих белков сыворотки крови и восстанавливается под действием кислого рабочего раствора, содержащего восстановитель (гидроксиламин) и детергент. Затем, после добавления буфера для создания в реакционной смеси необходимого pH (4,5 - 4,8) и феррозина, образуется устойчивый окрашенный железо-феррозиновый комплекс, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации железа в анализируемом образце и измеряется фотометрически при 562 (560 - 580) нм. Для исключения влияния меди, содержащейся в сыворотке, в рабочий раствор включена тиомочевина.

СОСТАВ НАБОРА

1. Рабочий раствор (без гидроксиламина), 100 мл - 1 флакон;
2. Гидроксиламин (4,0 г) - 1 флакон;
3. Буфер (натрия ацетат), 25 мл - 1 флакон;
4. Раствор феррозиона (30 г/л), 0,8 мл - 1 флакон;
5. Калибровочный раствор железа (89,5 мкмоль/л), 5 мл - 1 флакон.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения концентрации железа - в диапазоне от 3,58 до 89,5 мкмоль/л, отклонение от линейности - не более 5%.

Чувствительность определения - не более 1,8 мкмоль/л.

Воспроизводимость: коэффициент вариации не более 5%.

Нормальные величины концентрации железа в сыворотке крови составляют:

- у мужчин 11,6 - 31,3 мкмоль/л;
- у женщин 9,0 - 30,4 мкмоль/л.

Качество набора можно оценивать по контрольным сывороткам отечественного или зарубежного производства, аттестованным данным методом.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин у обследуемого контингента.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с набором необходимо соблюдать правила техники безопасности, рекомендуемые при работе с кровью в соответствии с "Инструкцией по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебных и профилактических учреждений", утвержденной Минздравом СССР 17.01.91 г., и "Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР" (М., 1981 г.).

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 или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Рабочий раствор содержит кислоту. В случае его попадания на кожу и слизистые необходимо сразу же промыть пораженное место большим количеством проточной воды. Пипетирование рег. ос. категорически запрещается. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Остальные компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 562 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 560-580 нм, кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,02, 0,5 и 2,5 мл;
- пробирки пластиковые одноразовые вместимостью 5-10 мл;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Рабочий раствор. Содержимое флакона с гидроксиламином растворить при перемешивании в рабочем растворе.

Рабочий раствор можно хранить в плотно закупоренном виде при температуре +2-8 °С не более 3 месяцев.

Остальные реактивы готовы к использованию.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты реакционной смеси внести в пробирки в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка крови	0,50	-	-
Калибровочный раствор железа	-	0,50	-
Рабочий раствор	2,50	2,50	2,50
Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (+18-25°C).			
Буфер	0,50	0,50	1,00
Содержимое пробирок тщательно перемешать и измерить оптическую плотность опытной пробы (E_1) при 562 нм против воды.			
	E_1		
Раствор феррозина	0,02	0,02	0,02
Содержимое пробирок тщательно перемешать, инкубировать в течение 5 минут при комнатной температуре и измерить оптическую плотность опытной пробы (E_2) и калибровочной пробы (E_k) при 562 нм против холостой пробы.			
	E_2	E_k	

При измерении оптической использовать кюветы с толщиной поглощающего свет слоя 10. Окраска устойчива в течение 1 часа.

Концентрацию железа рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_2 - E_1}{E_k} \times 89,5$$

где C - концентрация железа в опытной пробе, мкмоль/л;

E_1 и E_2 - оптические плотности опытной пробы до и после добавления феррозина, соответственно, ед.опт.плотн.;

E_k - оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;

89,5 - концентрация железа в калибровочной пробе, мкмоль/л.

Примечание: При использовании кювет другого объема расход реагентов может быть пропорционально изменен.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2 - 8 °C в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25°C не более 5 суток.

Срок годности набора – 2 года.

Рабочий раствор можно хранить в темном месте в плотно закупоренной посуде при температуре +2-8 °С не более 3 месяцев.

Все остальные компоненты набора после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закупоренном виде в темном месте при температуре +2-8° С не более 3 месяцев.

Для отбора проб на железо необходимо использовать одноразовую пластиковую посуду (пробирки и наконечники для пипеток). Стеклопосуду (пробирки) необходимо подвергать кипячению в разведенной соляной кислоте с последующим ополаскиванием дистиллированной водой.

По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО "Агат-Мед".

Телефоны для справок: (095) 460-50-48; 965-66-57; 965-75-75.

Научн. сотр. ООО "Агат-Мед"

В. В. Гладун В.В. Гладун

«СОГЛАСОВАНО»
Зав. Кафедрой клинической
лабораторной диагностики РМАГ
д.м.н., профессор



В. В. Долгов В.В. Долгов