

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусаинов

2021 г.



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения  
общего антиоксидантного статуса в сыворотке и плазме крови  
(Общий антиоксидантный статус)

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения общего антиоксидантного статуса в сыворотке и плазме крови «Общий антиоксидантный статус» (далее по тексту – набор) предназначен для количественного определения общего содержания антиоксидантов в сыворотке и плазме крови колориметрическим методом.

1.2. Набор предназначен для ручного анализа, полуавтоматических и автоматических анализаторов.

1.3. Набор выпускается в двух вариантах комплектации:

| Вариант комплектации | Количество определений | Расход рабочего раствора реагента 2 на одно определение | Фасовка                                                | Используемый анализатор |
|----------------------|------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------|
| 1                    | 250                    | 0,2 мл                                                  | 1×100 мл (P1); 5 (P2); 5×3,0 мл (P3); 5 (калибратор)   | Любой                   |
| 2                    | 500                    | 0,2 мл                                                  | 1×200 мл (P1); 10 (P2); 10×3,0 мл (P3); 5 (калибратор) | Любой                   |

Количество определений зависит от объема фасовки (варианта комплектации) и используемого биохимического анализатора при сохранении соотношения образец: рабочий раствор реагента 2: рабочий раствор реагента 3.

### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

#### 2.1. Принцип действия

При взаимодействии метмиоглобина с перекисью водорода образуется радикал феррилмиоглобин, который окисляет ABTS с образованием радикала ABTS<sup>•+</sup>, что сопровождается появлением зелено-голубой окраски, интенсивность которой измеряется

---

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой, старшим научным сотрудником. С.А. Дегтевой.

фотометрически при длине волны 600 (570-630) нм. Антиоксиданты подавляют развитие окраски пропорционально их концентрации в пробе.

## 2.2. Состав набора

В состав набора входят следующие компоненты:

- реагент 1 (P1): фосфатный буферный раствор, pH  $7,40 \pm 0,05$ , содержащий натрий хлористый;
- реагент 2 (P2): лиофильно высушенная смесь, содержащая 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоикислоты) диаммониевую соль (ABTS) и метмиоглобин;
- реагент 3 (P3): раствор перекиси водорода;
- калибратор: лиофилизат 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты (тролокс).

Точное значение концентрации тролокса указано на этикетке флакона с калибратором.

Состав вариантов комплектации:

- 1) - реагент 1: 1 флакон (100 мл);
- реагент 2: 5 флаконов (лиофилизированная смесь);
- реагент 3: 5 флаконов (3 мл);
- калибратор: 5 флаконов (лиофилизат).
- 2) - реагент 1: 1 флакон (200 мл);
- реагент 2: 10 флаконов (лиофилизированная смесь);
- реагент 3: 10 флаконов (3 мл);
- калибратор: 5 флаконов (лиофилизат).

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1.\* Чувствительность - не более 0,20 ммоль/л.

3.2.\* Линейность в диапазоне концентраций тролокса 0,25-2,50 ммоль/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 – 0,25-2,50 ммоль/л

3.7. Нормальные величины концентрации антиоксидантов в сыворотке и плазме крови:

– 1,3-1,8 ммоль/л.

3.8. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин концентрации антиоксидантов у обследуемого контингента людей.

3.9. Прослеживаемость аттестованного значения калибратора указана в паспорте.

\* по 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. Набор реагентов предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.3. При работе с набором следует избегать разбрызгивания и попадания компонентов набора на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

4.4. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила 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.

4.5. 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».

4.6. Дезинфекцию наборов реагентов, посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми образцами, 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 600 (570-630) нм, кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм), поддерживающий температуру жидкости в кювете в процессе анализа  $37 \pm 0,5$  °С;

– дозаторы механические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 1-25, 20-200 и 100-1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования (погрешность не более 1,5%);

– пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– вода дистиллированная;

– термостат;

– таймер;

– раствор натрия хлорида изотонический 0,9 % для инъекций;

– дезинфицирующий раствор.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка, гепаринизированная плазма крови человека.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 36 ч; при температуре минус 20 °С и ниже не более 14 сут. Повторное замораживание образцов сыворотки, плазмы крови не допускается.

Присутствие в образцах сыворотки крови гемоглобина до 0,5 г/л, билирубина до 50 мкмоль/л и липемии не оказывает значимого влияния на результаты количественного определения содержания антиоксидантов.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

### 7.1. Подготовка к анализу.

#### 7.1.1. Приготовление рабочего раствора реагента 2 (PP2).

Выдержать флакон с реагентом 2 при температуре от 18 до 26 °С в течение 30 мин, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 10 мл реагента 1. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его в течение 20 минут до полного растворения лиофилизата. По истечении указанного времени содержимое перемешать путем переворачивания и вращения флакона вручную, избегая образования пены. После этого PP2 готов к использованию.

Приготовленный PP2 можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 2 сут.

#### 7.1.2. Приготовление рабочего раствора реагента 3 (PP3).

К 1 объему реагента 3 добавить 1,5 объема реагента 1.

Приготовленный PP3 можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 1 сут.

#### 7.1.3. Приготовление калибратора.

Выдержать флакон с калибратором при температуре от 18 до 26 °С в течение 30 минут, затем открыть, не допуская потери лиофилизированного материала. Внести во флакон 1 мл дистиллированной воды. Аккуратно закрыть флакон и выдержать его 20 мин для растворения лиофилизата. Содержимое флакона тщательно перемешать путем переворачивания и вращения флакона вручную для полного растворения лиофилизата. Калибратор разлить на аликвоты для суточной потребности лаборатории, плотно закрыть.

Приготовленный калибратор можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 2 сут. или при температуре минус 20 °С не более 1 месяца.

### 7.2. Проведение анализа.

7.2.1. Перед началом работы рабочие растворы реагентов нагреть до температуры анализа  $37 \pm 0,5$  °С. На протяжении всего анализа поддерживать температуру пробы (смеси реагента и образца)  $37 \pm 0,5$  °С.

7.2.2. Компоненты реакционной смеси отобрать в пробирки в количествах, указанных в таблице.

Таблица

| Отмерить, мл                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Опытная проба | Калибровочная проба | Контрольная (холостая) проба |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------------|------------------------------|
| PP2                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0,5           | 0,5                 | 0,5                          |
| Вода дистиллированная                                                                                                                                                                                                                                                                                        | –             | –                   | 0,01                         |
| Калибратор                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | –             | 0,01                | –                            |
| Анализируемый образец                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 0,01          | –                   | –                            |
| Пробы перемешать и выдержать 1-5 мин при температуре $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ и измерить оптическую плотность опытной ( $E_{\text{оп1}}$ ), калибровочной ( $E_{\text{кал.1}}$ ) и холостой ( $E_{\text{х.1}}$ ) проб против дистиллированной воды при длине волны 600 (570-630) нм.                       |               |                     |                              |
| PP3                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 0,1           | 0,1                 | 0,1                          |
| Включить таймер, пробы перемешать и выдержать точно! 3 мин при температуре $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Измерить оптическую плотность опытной ( $E_{\text{оп2}}$ ), калибровочной ( $E_{\text{кал.2}}$ ) и холостой ( $E_{\text{х.2}}$ ) проб против дистиллированной воды при длине волны 600 (570-630) нм. |               |                     |                              |

**Примечание.** В зависимости от объема используемой кюветы количество реагентов и анализируемого образца может быть пропорционально изменено при сохранении соотношения образец : рабочий раствор реагента 2: рабочий раствор реагента 3 – 1:50:10).

## 8. РАСЧЕТЫ

Концентрацию антиоксидантов (общий антиоксидантный статус) в сыворотке, плазме крови (С, ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{\Delta E_{\text{х}} - \Delta E_{\text{оп}}}{\Delta E_{\text{х}} - \Delta E_{\text{кал}}} \times C_{\text{кал}},$$

где:  $\Delta E_{\text{оп}}$  – разность оптических плотностей первого и второго измерения опытной пробы, ед. опт. плотн.;

$\Delta E_{\text{кал}}$  – разность оптических плотностей первого и второго измерения калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

$\Delta E_{\text{х}}$  – разность оптических плотностей первого и второго измерения холостой пробы, ед. опт. плотн.;

$C_{\text{кал}}$  – концентрация тролокса в калибраторе, ммоль/л.

Если общее содержание антиоксидантов в анализируемом образце превышает 2,50 ммоль/л, образец следует разбавить в 2 раза раствором натрия хлорида изотонического 0,9 % для инъекций, измерения повторить, полученный результат умножить на 2. Разбавление пробы приводит к увеличению (до 20 %) истинного значения, поэтому его необходимо делать только в случае необходимости.

## 9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать набор следует всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8 °С.

Допускается транспортирование при температуре до 26 °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 – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Реагент 1 после вскрытия можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

9.5. Реагент 3 после вскрытия можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С в течение 2 сут.

9.6. Рабочий раствор реагента 2 можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 2 сут.

9.7. Рабочий раствор реагента 3 можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 1 сут.

9.8. Приготовленный калибратор можно хранить в плотно закрытом виде при температуре от 2 до 8 °С не более 2 сут или при температуре минус 20 °С не более 1 месяца.

9.9. Время реакции необходимо соблюдать максимально точно.

9.10. Для проведения внутрилабораторного контроля качества следует использовать контрольный материал «Контроль Общий антиоксидантный статус».

9.11. Если при работе на автоматическом биохимическом анализаторе результаты измерений в контрольном материале не соответствуют аттестованному значению, необходима адаптация набора к данному анализатору.

9.12. Анализ чувствителен к загрязнениям. Используемая посуда, кюветы должны быть тщательно отмыты, особенно от детергентов и гипохлорита. При работе на автоматических биохимических анализаторах необходимо следить за чистотой рабочих поверхностей, дозирующих игл, трубок и резервуаров прибора.

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

9.14. Набор предназначен для однократного применения.

## **10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА**

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

Безопасность и качество изделия гарантируются 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 «Общий антиоксидантный статус», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, а/я 121, тел. (383) 363-50-64, 227-75-50, тел./факс (383) 332-94-44.

Старший научный сотрудник  
АО «Вектор-Бест»



С.А. Дегтева

Начальник отдела биохимии  
АО «Вектор-Бест», к.б.н.



Г.Е. Яковлева

«СОГЛАСОВАНО»  
Проректор по научной работе  
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России  
д.м.н., профессор



Т.И. Поспелова

2021 г.



Прошнуровано, пронумеровано и  
скреплено печатью 7 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ  
Минздрава России

Захарова Л.Н.

“09” 02 20 21 г.

