

УТВЕРЖДЕНА**«УТВЕРЖДАЮ»**Приказом Росздравнадзора
от _____ 200__ г. № _____Первый заместитель
генерального директора
ФГУП «НПО «Микроген»

И.В. Сакаева
« ____ » _____ 200__ г.**ИНСТРУКЦИЯ**

по применению

**Набора реагентов для определения гемоглобина в крови
гемиглобинцианидным методом****1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов для определения гемоглобина в крови гемиглобинцианидным методом предназначен для определения содержания гемоглобина крови.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**2.1. Принцип метода.**

Гемоглобин (и его дериваты, за исключением вердоглобина) при взаимодействии с железосинеродистым калием (красная кровяная соль) окисляется в метгемоглобин (гемиглобин), образующий с ацетонциангидрином окрашенный комплекс гемиглобинцианида. Интенсивность окраски пропорциональна количеству гемоглобина. Содержание гемиглобинцианида определяют спектрофотометрическим методом.

2.2. Состав набора.

Состав набора реагентов представлен в таблице 1.

Таблица 1

Наименование реагента	Количество в ампуле (пробирке)	Обозначение НД	Марка
ГСО состава раствора гемиглобинцианида, мл	5,0	ТУ 50-03-6096-92	ГСО № 6096-91
Реагент 1. Ацетонциангидрин C_4H_7ON , мл	0,5	ТУ 6-09-3516-78	ч.
Реагент 2. Смесь сухих навесок для приготовления трансформирующего раствора, г в т.ч. калий железосинеродистый $K_3Fe(CN)_6$, г натрий углекислый кислый $NaHCO_3$, г	1,2		
	0,2	ГОСТ 4206-75	х.ч., ч.д.а.
	1,0	ГОСТ 4201-79	х.ч., ч.д.а.

Стандартный образец (ГСО) гемиглобинцианида, входящий в набор, утвержден Госстандартом РФ, внесен в Государственный реестр измерений, раздел «Государственные стандартные образцы состава и свойств вещества и материалов» под № 6096-91, имеет сертификат об утверждении типа государственного стандартного образца № 1559/2 от 20.04.2006 г.

Комплектность набора реагентов представлена в таблице 2.

Таблица 2

Наименование реактива	Количество ампул (пробирок) в упаковке		
	Комплект №1	Комплект №2	Комплект №3
ГСО состава раствора гемиглобинцианида	2	2	1
Реагент 1. Ацетонциангидрин	4	2	2
Реагент 2. Смесь сухих навесок для приготовления трансформирующего раствора	4	2	2

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.

Линейность – в диапазоне концентраций гемоглобина от 60 до 170 г/л составляет 97-103%.

Чувствительность – не более 50 г/л.

Коэффициент вариации результатов измерений – не более 2 %.

ГСО состава раствора гемиглобинцианида, входящий в набор, выпускается с содержанием гемиглобинцианида в интервале (0,6-1,0) г/л, что соответствует при разведении крови в 251 раз содержанию гемоглобина в крови (150,6 – 251,0) г/л.

Конкретное значение содержания гемиглобинцианида в ГСО и соответствующее содержание гемоглобина для каждой серии указано на упаковке и в паспорте на продукцию.

Нормальные величины гемоглобина в крови:

- мужчины: 130-160 г/л;
- женщины: 120-140 г/л.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

ГСО состава раствора гемиглобинцианида не требует специальных мер безопасности при его использовании, так как изготовлен из эритроцитов донорской крови, прошедшей контроль на отсутствие HBsAg, антител к вирусам ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусу гепатита С.

Ацетонциангидрин, входящий в набор, относится к сильнодействующим ядовитым веществам группы 4А ферментного типа. ПДК ацетонциангидрина составляет 0,9 мг/м³, II класс опасности. Работу с ацетонциангидрином проводить с соблюдением требований безопасности в вытяжном шкафу или в помещениях с эффективным воздухообменом.

При розливе ацетонциангидрин дегазируют 10% водным раствором натрия гидроокиси и сульфата железа (II) в соотношении 1:2. При попадании на кожный покров пораженный участок промыть большим количеством воды.

Следует соблюдать меры предосторожности при работе с исследуемыми образцами. При работе с цельной кровью и другими биологическими жидкостями необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы следует рассматривать как потенциально инфицированные.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Средства измерений:

- спектрофотометр (типа СФ-16, СФ-18, СФ-39, СФ-46, и др.) по ГОСТ 8.229, либо колориметр фотоэлектрический (типа ФЭК-56М, ФЭК-60, КФК-2 и др.) по ГОСТ 8.298, или гемоглобинометр (типа ГФГУ-С4 и др.);
- иономер универсальный типа ЭВ-74 или другой с пределом допустимой основной погрешности $\pm 0,05$ рН.

Допускается использовать другие СИ с метрологическими характеристиками не ниже указанных. Все СИ должны быть поверены в соответствии с требованиями ПР 50.2.006.

Мерная посуда:

Пипетка 1-1 (2)-2-5 по ГОСТ 29227;

Пипетка 1-1-1-0,5 по ГОСТ 29227;

Пипетки-дозаторы с переменным или постоянным объемом, позволяющие отбирать объемы жидкости 20 и 5000 мкл с погрешностью дозировки не более 3 %;

Колба 1 (2)-1000-2 по ГОСТ 1770;

Пробирки стеклянные вместимостью 15-20 мл;

Вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Цельная кровь (капиллярная или венозная).

7. . ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка реагентов для анализа.

Комплект №1 рассчитан на 800 определений, комплекты №2 и 3 – на 400 определений.

Используя часть набора (1 ампулу и 1 пробирку каждого реагента) можно приготовить 1,0 л трансформирующего раствора (на 200 анализов).

Приготовление трансформирующего раствора.

Содержимое 1 ампулы реагента 1 и 1 пробирки реагента 2 количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор перемешивают (осторожно, избегая сильной пены).

Значение pH раствора должно быть от 7,9 до 8,9.

Трансформирующий раствор стабилен при хранении в посуде из светозащитного стекла при комнатной температуре в течение 3 месяцев.

При появлении осадка или обесцвечивании раствор не пригоден к употреблению!

7.2. Проведение анализа.

Определение проводят в соответствии с приказом Минздрава № 960 от 15.10.1974 г.

Перед использованием набора реагентов проводят проверку целостности упаковки, наличие маркировки, инструкции по применению путем внешнего осмотра.

В пробирку к 5,0 мл трансформирующего раствора добавляют 0,02 мл крови (разведение в 251 раз). Содержимое пробирки тщательно перемешивают и оставляют на 10-20 минут при комнатной температуре.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотозлектроколориметре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм против трансформирующего раствора.

Содержание гемоглобина в крови (H_b) в граммах на литр находят по градуировочному графику, построенному с использованием ГСО (см. ниже), либо рассчитывают по формуле:

$$H_b = \frac{E_{оп}}{E_{со}} \times C_{со} \times 251,$$

где: $E_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы;

$E_{со}$ – оптическая плотность ГСО состава раствора гемиглобинцианида;

$C_{со}$ – содержание гемиглобинцианида в ГСО, г/л;

251 – коэффициент разведения крови.

Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика ампулы с ГСО предварительно выдерживают при комнатной температуре в течение 30 минут, после чего их вскрывают и готовят ряд разведений при помощи градуированных пипеток.

№ пробирки	СО гемиглобинцианида, мл	Трансформирующий раствор, мл	Фактор разведения	Содержание гемоглобина в крови, г/л
1	1	4	0,2	$0,2 \times C_{со} \times 251$
2	2	3	0,4	$0,4 \times C_{со} \times 251$
3	3	2	0,6	$0,6 \times C_{со} \times 251$
4	4	1	0,8	$0,8 \times C_{со} \times 251$
5	5	-	1,0	$1,0 \times C_{со} \times 251$

где: $C_{со}$ – содержание гемиглобинцианида в ГСО в граммах на литр (указана на этикетке);

251 – коэффициент разведения крови.

Оптические плотности приготовленных растворов измеряют по мере возрастания их концентраций против трансформирующего раствора в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 540 нм.

По полученным данным строят градуировочный график (для каждого прибора индивидуально) в координатах: «содержание гемоглобина» - «оптическая плотность раствора СО гемиглобинцианида». Градуировочный график необходимо проверять не реже одного раза в месяц, а также при каждой смене реагентов.

Контроль воспроизводимости результатов определения гемоглобина.

Воспроизводимость результатов можно оценить:

- по коэффициенту вариации;
- методом построения контрольных карт.

В контрольной карте ежедневно отмечают результаты определения гемоглобина в двух контрольных растворах. Если результаты определения выходят за пределы $2S$ – воспроизводимость неудовлетворительная.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Срок годности набора – 18 месяцев. После переконтроля срок годности может быть продлен на 6 месяцев.

Наборы необходимо хранить в упаковке производителя, в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С (избегать замораживания).

Приготовленный трансформирующий раствор можно хранить в защищенном от света месте при комнатной температуре не более 3 месяцев.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С. Замораживание не допускается.

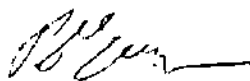
Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

Рекламации на качество набора в течение срока годности следует направлять по адресу производителя: ФГУП «НПО «Микроген», Россия, 115088, г. Москва, ул. 1-ая Дубровская, д. 15, тел. (495) 710-37-87.

Адрес производства: Россия, 620030, г. Екатеринбург, ул. Летняя, д. 23, тел. (343) 261-99-67.

Ответственный за производство:

Зам. директора по производству
филиала ФГУП «НПО «Микроген»
в г. Екатеринбург


В.А.Цицин
« 11 » 11 2009 г.

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ЗАО «Вымпел-Медцентр»
Канд. мед. наук

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики РМАПО, д.м.н, профессор


П. Кондрашов
12 2009 г.
В.В. Долгов
12 2009 г.