

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° С в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25° С не более 5 суток.

Срок годности набора – 2 года.

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

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

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

По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просям обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед». Телефон для справок: (495) 777-41-92.

Инструкция составлена: к.б.н. И.В. Смирновым – зав. лабораторией ГНЦ РАМН, к.х.н. Г.Н. Кольцовой – ст. научн. сотрудником ГНЦ РАМН, В.В. Гладуном – главным технологом ООО «Агат-Мед».



Клиническая
биохимия

105173, Москва, ул. Западная,
д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед».
Тел.: (495) 777-41-92.
Факс: (495) 741-25-19.
www.agat.ru agat@agat.ru

ЖЕЛЕЗО АГАТ

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
От 15.09.2008 г. № 7363-Пр/08

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов для определения железа в сыворотке крови

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного колориметрического определения содержания железа в сыворотке крови человека по реакции с динатриевой солью 3-(2-пиридин)-5,6-бис(4-сульфофенил)-1,2,4-триазина (феррозином) без де-протеинизации 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 рН (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 феррозина**, (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 клинико-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 разрешается. 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 пластмассовые одноразовые нестерильные вместимостью 5–10 мл;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

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

Рабочий раствор можно хранить в плотно укупоренном виде при температуре +2–8° С не более 3-х 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° С) | | | |
| 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 плотности использовать кюветы с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм. Окраска устойчива в течение 1 часа после окончания инкубации.

РАСЧЕТЫ

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_2 и E_1 – 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.