

**УВАГА! ЗМІНА ІНСТРУКЦІЇ!****Інструкція**

з використання набору реагентів для визначення
кількості заліза та загальної залізовв'язуючої здатності
сироватки та плазми крові

Залізо-3333 СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8 °С

Тільки для професійного використання.

Клінічне значення

Залізо є компонентом великої кількості ферментів, а також міоглобіну, м'язового білку та печінки. Залізо необхідне для виробництва гемоглобіну. Загальна залізовв'язуюча здатність (3333) - це кількість заліза, яке може бути пов'язане через трансферин до повного його насичення. Діапазон можливих порушень широкий і включає анемії, нефроз, цироз печінки та гепатит. Обидва показники, рівень заліза та 3333 крові, взаємопов'язані та важливі для правильної постановки діагнозу.

Зниження заліза сироватки відбувається при залізодефіцитній анемії, ахілічній анемії, уремії, гнійних та септичних захворюваннях та інтоксикації, інфаркті міокарду.

Високий вміст заліза спостерігається при первинному гемохроматозі, захворюваннях печінки (хронічному гепатиті, цирозі), анеміях (більшість гемолітичних, сідероахрестиних), при усіх формах жовтільниці, при збільшенні синтезу трансферина.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. **Реагент 1.** Буфер: ацетат - 100 mmol/l (ммоль/л).
2. **Реагент 2.** Відновник: аскорбінова кислота - 99.7%.
3. **Реагент 3.** Ферозин - 40 mmol/l (ммоль/л).
4. **Стандарт.** Водний розчин заліза. Точна концентрація вказана в сертифікаті якості.
5. **Реагент 5.** Насичуючий розчин: Розчин заліза - 5 mg/l (мг/л).
6. **Реагент 6.** Осаджувач: карбонат магнію.
7. Ложка.
8. Інструкція з використання.
9. Сертифікат якості.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 0.4 - 180 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л). Відхилення від лінійності не перевищує 5 %. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 g/l (г/л) та помножьте результат на два.
2. Чутливість не менш 0.4 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л).
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень - не більш 5 %.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 562 nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 cm (см).
- Центрифуга.
- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом.

Матеріал для дослідження

Сироватка або гепаринізована плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 h (год) після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків. Стабільність зразка: 7 d (доб) при 2-8 °С.

Визначення концентрації ЗАЛІЗА**Принцип методу**

У кислому середовищі залізо дисоціює на комплекс трансферина з залізом. Звільнене залізо відновлюється до двовалентного під дією аскорбінової кислоти. Іони заліза Fe^{2+} з ферозином утворюють кольоровий комплекс.

Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації заліза в зразку.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

Приготування робочого реагенту **РР**: розчиніть вміст одного флакону **Р2** (відновник) в одному флаконі **Р1** (буфер). Закрийте флакон і обережно перемішайте вміст.

Залиште не менш ніж на 30 min (хв) до використання.

РР стабільний 3 mth (міс) при 2-8 °С або 1 mth (міс) при 15-25 °С.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 562 (530-590) nm (нм)

кювета з товщиною оптичного шару 1 cm (см)

температура 37 °С/ 15-25 °С

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

	Холостий зразок	Стандартний зразок	Холостий дослідний зразок	Дослідний зразок
РР, ml (мл)	1.0	1.0	1.0	1.0
Р3, μl (мкл)	50	50	-	50
Дист. Вода, μl (мкл)	200	-	-	-
Стандарт, μl (мкл)	-	200	-	-
Зразок, μl (мкл)	-	-	200	200

Прим. Об'єми реагентів, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора

4. Перемішати, інкубувати протягом 5 min (хв) при 37 °С або 10 min (хв) при кімнатній температурі.

5. Виміряти оптичну щільність (E) стандартного, холостого дослідного і дослідного зразків проти холостого зразка.

Забарвлення стабільне протягом 30 min (хв).

Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{досл}} - E_{\text{хол.досл}} - E_{\text{хол}}}{E_{\text{ст}} - E_{\text{хол}}} \times C_{\text{ст}},$$

де: $C_{\text{дос}}$ - вміст заліза в дослідному зразку, μmol/l (мкмоль/л).

$E_{\text{досл}}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{хол.досл}}$ - оптична щільність холостого дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{ст}}$ - оптична щільність стандартного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{хол}}$ - оптична щільність холостого зразка, одиниць оптичної щільності.

$C_{\text{ст}}$ - вміст заліза в стандарті.

Визначення ЗАГАЛЬНОЇ ЗАЛІЗОЗВ'ЯЗУЮЧОЇ ЗДАТНОСТІ

Принцип методу

Сироватку насичують іонами тривалентного заліза (Fe³⁺). Надлишок іонів заліза адсорбують на карбонаті магнію і видаляють центрифугуванням. В супернатанті визначають зміст заліза зв'язаного з сироваткою.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

Всі реагенти готові до використання.

Проведення аналізу

1. Внести до пробірки:

Зразок, ml (мл)	0.5
Р5, ml (мл)	1.0
Перемішати та інкубувати 10 min (хв) при кімнатній температурі	
Р6, ложка	3

2. Перемішати та інкубувати 10 min (хв) при кімнатній температурі.

3. Центрифугувати 15 min (хв) при 3000 g/min (об/хв).

4. Обережно зібрати супернатант та виміряти концентрацію заліза

Розрахунок результатів

Загальну залізоЗв'язуючу здібність сироватки крові визначити по формулі:

$$3333 = C_{\text{заліза супернатант}} \times 3$$

Ненасичену залізов'язуючу здатність сироватки визначити по формулі:

$$Н333 = 3333 - С \text{ заліза сироватки}$$

Насищення трансферину визначити по формулі:

$$НТ = \frac{С_{\text{заліза сироватки}}}{3333} \times 100 \%$$

де: 3333 – загальна залізов'язуюча здатність сироватки крові, $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л);

С заліза супернатант – вміст заліза в супернатанті, $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л);

3.0 – коефіцієнт розведення сироватки;

Н333 – ненасичена залізов'язуюча здатність сироватки, $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л);

С заліза сироватки - вміст заліза в сироватці, $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л);

НТ - насичення трансферину, %

Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальні рівні в сироватці або плазмі крові становлять:

Залізо чоловіки 11.6 – 31.3 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л) = 0.65 – 1.75 mg/l (мг/л)

жінки 7.16 – 26.85 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л) = 0.4 – 1.5 mg/l (мг/л)

3333 36-72 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л) = 2-4 mg/l (мг/л)

Н333 32-46 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л) = 1.77-2.56 mg/l (мг/л)

Коефіцієнт перерахунку: mg/l (мг/л) x 17.9= $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л).

НТ чоловіки 20-50 %

жінки 15-50 %

Відтворюваність

ЗАЛІЗО	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, $\mu\text{g/dl}$ (мкг/дл)	151	177	149	181
SD	1,62	1,79	6,98	9,62
CV, %	0,46	0,42	1,73	1,58

3333	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, $\mu\text{g/dl}$ (мкг/дл)	371	406	359	565
SD	1,79	1,82	7,16	9,46
CV, %	0,49	0,45	1,99	1,67

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати:

ЗАЛІЗО

Коефіцієнт кореляції (r)²: 0,89

Рівняння регресії: $y=0,9816x - 12,80$

3333

Коефіцієнт кореляції (r)²: 0,93

Рівняння регресії: $y=0,9614x - 14,20$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Гемоліз призводить до завищених результатів.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи «СпЛ Контроль Норма», «СпЛ Контроль Патологія» (ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) або контрольний матеріал іншого виробника. Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Залізо Стандарт. Працюйте обережно з цим реактивом, оскільки за своєю природою він легко може забруднитися.
3. Рекомендовано використовувати одноразові витратні матеріали. Якщо ви працюєте зі скляним посудом, то його потрібно витримати протягом 6 h (год) в слабкому розчині HCl (20%), а потім ретельно промити дистильованою водою і висушити перед використанням.
4. Калібрування з водним стандартом може призвести до виникнення систематичної помилки в автоматизованих процедурах. У таких випадках, рекомендується використовувати Калібратор-сироватку.
5. Метод вимагає високої чистоти досліду.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8 °С. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25 °С. Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37 °С не більше 72 h (год).

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність осаду і помутніння.
- ОЩ холостого зразка при 562 nm (nm) ≥ 0.02 .

Гарантія виробника










1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

Комплектація

	REF 3.002	REF 3.003
Вміст	25 визн.	50 визн.
P1	1 x 50 ml (мл)	1 x 100 ml (мл)
P2	1 x 200 mg (мг)	1 x 400 mg (мг)
P3	1 x 2.5 ml (мл)	1 x 5 ml (мл)
Стандарт	1 x 2.5 ml (мл)	1 x 5 ml (мл)
P5	1 x 25 ml (мл)	1 x 50 ml (мл)
P6	1 x 5 g (г)	1 x 10 g (г)
Ложка	1 шт.	1 шт.

ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.
Тел./факс: (057) 752-32-31, www.granum.ua

Символи на продукції

 Виробник	Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер серії
 IVD Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання	 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам
 Обмеження	 Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів	 Температурне	 Каталогний номер