

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения гемоглобина (Диагем Т)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения гемоглобина (Диагем Т) предназначен для количественного определения общего гемоглобина в крови гемиглобинцианидным методом на спектрофотометрах (СФ), фотоэлектроколориметрах (ФЭК) и гемоглобинометрах.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Состав:

- | | |
|---|-----------|
| 1. Трансформирующий реагент – 5 флаконов | Код ГМ-2; |
| 2. Трансформирующий реагент – 10 флаконов | Код ГМ-6. |
- Набор ГМ-2 комплектуется с калибровочным раствором гемиглобинцианида (5,0 мл) - 1 ампула.

Число анализируемых проб биологического материала

Один набор ГМ-2 предназначен для проведения 1000 анализов, а набор ГМ-6 – 2000 анализов при расходе 5,0 мл трансформирующего реагента на один анализ.

Принцип метода основан на образовании из гемоглобина крови стойкого соединения - гемиглобинцианида, интенсивность окраски которого пропорциональна количеству гемоглобина. Реакция проходит в два этапа:

1. окисление всех форм гемоглобина крови в метгемоглобин под действием калия железосинеродистого;
2. переход метгемоглобина в гемиглобинцианид под действием цианид-ионов.

Гемиглобинцианидный метод рекомендован Международным комитетом по стандартизации в гематологии. Метод позволяет определять все производные гемоглобина, кроме сульфгемоглобина.

ПРОСЛЕЖИВАЕМОСТЬ ЗНАЧЕНИЙ, ПРИПИСАННЫХ КАЛИБРАТОРУ

Содержание гемиглобинцианида в калибраторе устанавливают при аттестации каждой серии против внутреннего стандарта, который в свою очередь был аттестован против Международного Стандарта гемиглобинцианида, код 98/708, полученного из NIBSC. Значения содержания гемиглобинцианида в калибраторе указано в паспорте.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфичность

Следующие вещества не влияют на правильность определения гемоглобина: триглицериды – до 1,2 г/л. При превышении указанной концентрации возможно получение ложно завышенных результатов.

Чувствительность

Метод позволяет определять 2,5 г/л гемоглобина.

Воспроизводимость

Допустимое отклонение от аттестованного значения концентрации гемиглобинцианида в калибровочном растворе – не более 2%.

Коэффициент вариации результатов определений гемоглобина - не более 2%. Допустимый разброс результатов определения концентрации гемоглобина в одной пробе крови разными наборами одной серии не превышает 2%.

Линейность

Линейность определения от 0 до 200 г/л.

Значения концентраций, соответствующие нормальным.

В норме содержание гемоглобина в крови здоровых людей колеблется в зависимости от возраста и составляет:

у мужчин – 120 - 174 г/л.

у женщин – 115 - 161 г/л;

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*. Класс опасности 2а.

При работе с набором реагентов и с исследуемыми образцами крови пациентов следует соблюдать правила, описанные в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Инструкция утверждена Минздравом СССР в 1991 г.). При работе следует надевать защитную одежду (халат), а также медицинские диагностические одноразовые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать вирусы иммунодефицита человека ВИЧ1 и ВИЧ2, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Спектрофотометр с длиной волны 540 нм или
- фотоэлектроколориметр с зеленым светофильтром, длина волны 500 – 560 нм или
- гемоглобинометр типа МиниГЕМ 540;
- скарификаторы;
- капилляр для взятия крови объемом 20 мкл или вакуумная система для взятия капиллярной крови;
- пипетка объемом 5,0 мл;
- пробирки стеклянные или пластиковые объемом 5,0-10 мл;
- колба мерная или цилиндр объемом 1,0 л;
- вода дистиллированная;
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Вид анализируемого биологического материала

Набор реагентов Диагем-Т предназначен для определения концентрации гемоглобина в цельной человеческой крови.

Процедура получения биологического материала

Обработать мякоть пальца спиртом и сделать прокол скарификатором. Удалить первую каплю крови ватным тампоном. Затем свободно выступающие капли крови отобрать капилляром объемом 0,02 мл или воспользоваться вакуумной системой для взятия капиллярной крови.

Условия хранения биологического материала

Время хранения исследуемой крови до анализа - не более 8 ч при комнатной температуре (18-25°C). Не допускается замораживания пробы крови до анализа.

Ограничения по использованию биологического материала

Повышенный уровень HbC или HbS, прогрессирующие заболевания печени, легко преципитирующие глобулины, например, при миеломной болезни или макроглобулинемии Вальденстрема, лейкоцитоз более 25×10^9 препятствуют получению правильных результатов.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Трансформирующий раствор. Трансформирующий реагент представляет собой смесь измельченных и гомогенизированных солей калия железосинеродистого, цианида натрия и гидрокарбоната натрия. Содержимое флакона количественно перенести в мерную колбу объемом 1,0 л, довести до метки дистиллированной водой и растворить в течение 10 минут. Раствор перенести в бутылку из темного стекла.

Калибровочный раствор гемиглобинцианида является готовым реагентом. После вскрытия ампулы раствор должен быть использован в течение 2 часов.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приготовление пробы. Внести в стеклянную пробирку 5,0 мл трансформирующего раствора и 0,02 мл капиллярной крови. Тщательно перемешать, избегая вспенивания, и выдержать при комнатной температуре не менее 30 минут. Исследуемый образец должен быть проанализирован в течение 6 часов.

Проведение измерения на гемоглобинометре МиниГЕМ 540

Приготовленную пробу перелить в кювету и опустить кювету в измерительную ячейку прибора. Определить концентрацию гемоглобина по дисплею.

Используйте калибратор в необходимых случаях для проверки качества фотометрирования. Для этого налить в кювету не менее 1,0 мл калибровочного раствора гемиглобинцианида, определить концентрацию на гемоглобинометре и сравнить со значением, указанным в паспорте на набор.

Проведение измерения на ФЭК и СФ. Измерить оптическую плотность пробы (D_n) и калибровочного раствора гемиглобинцианида (D_k) против кюветы сравнения с трансформирующим раствором. Измерение проводить в кюветах с длиной оптического пути 10 мм: на СФ при длине волны 540 нм или на ФЭК, используя зеленый светофильтр, длина волны 500-560 нм.

РАСЧЕТЫ

Концентрацию гемоглобина в крови (C_n) рассчитать по формуле:

$$C_n = \frac{D_n}{D_k} \times C_k, \text{ где:}$$

C_k - концентрация гемиглобина, г/л, соответствующая концентрации гемиглобинцианида в калибровочном растворе (указана в паспорте на набор).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Повышенное содержание гемоглобина наблюдается при: полицитемии, гемоконцентрации в результате дегидратации, ожогов, упорной рвоты, кишечной непроходимости, у заядлых курильщиков из-за образования функционально неполноценного HbCO, вследствие пребывания на больших высотах и при чрезмерных физических нагрузках.

Пониженное содержание гемоглобина наблюдается при: анемии, и при применении препаратов, вызывающих апластическую анемию или гемолиз, в случае дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, под действием иммунного механизма.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения процедуры калибровки приборов, используемых для определения общего гемоглобина гемиглобинцианидным методом, необходимо наличие:

Набора калибровочных растворов гемиглобинцианида «Гемиглобинцианид» производства НПО «РЕНАМ» код ГМ-1

Для проверки правильности определения гемоглобина гемиглобинцианидным методом (внутренний лабораторный контроль) необходимо наличие:

Набора контрольных растворов гемоглобина «Диагем К» производства НПО «РЕНАМ»: код ГМ-3

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора – 24 месяца. Набор стабилен в течение всего срока годности реагентов при условии хранения в укупоренном виде при температуре 2-8°C.

Раствор трансформирующего реагента стабилен в течение 3 месяцев при комнатной температуре (18-25°C). При появлении осадка и при обесцвечивании раствор трансформирующего реагента не пригоден для определения гемоглобина.

Транспортирование наборов должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и

правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 10 суток. Не допускается замораживания ампулы с калибровочным раствором гемиглобинцианида!

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие Трансформирующего реагента и набора Диагем Т требованиям Технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» (СанПиН № 2.1.7.2790-10 от 12.12.2010) отходы от работы с набором Диагем Т с использованием образцов плазмы крови пациентов относятся к классу опасности Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на $\frac{3}{4}$, завязывают, маркируют надписью: «Отходы. Класс Б», наносят на бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долгов В.В., Ованесов Е.Н., Щетникович К.А. Фотометрия в лабораторной практике. СПб., Витал Диагностика, 2004.- 192 с.
2. Козлов А.А., Простакова Т.М., Берковский А.Л. Пособие для врачей-лаборантов по методу определения гемоглобина. М., Принт, 2013.- 24 с.
3. Кушаковский М.С. Клинические формы повреждения гемоглобина. М., Медицина, 1968.- 328 с.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу:

125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 4, стр. 2.

тел/факс (499)707-76-30, (495) 225-12-61,

e-mail: info@renam.ru.