

2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для иммуноферментного определения
концентрации ферритина в сыворотке
(плазме) крови
(Ферритин-ИФА-БЕСТ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Ферритин-ИФА-БЕСТ предназначен для определения концентрации ферритина в сыворотке (плазме) крови человека методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Ферритин – глобулярный белковый комплекс, состоящий из 24 субъединиц и выполняющий роль основного внутриклеточного депо железа. Ферритин является основным показателем запасов железа в организме, играет важную роль в поддержании железа в биологически полезной форме. В его составе содержатся фосфаты железа. Ферритин синтезируется в клетках органов ретикуло-эндотелиальной системы, содержится во всех клетках и жидкостях организма. Наиболее богаты им предшественники эритроцитов в костном мозге, макрофаги и ретикулоэндотелиальные клетки печени; также обнаруживается в слизистой оболочке кишечника и в плазме.

1.3. Количественное определение содержания ферритина в клинической практике позволяет проводить дифференциальную диагностику заболеваний, сопровождающихся нарушениями метаболизма железа и анемиями, а также следить за развитием опухолей. Измерение сывороточного ферритина имеет клиническую значимость также при мониторинге железа в организме беременных женщин, доноров крови и пациентов, проходящих гемодиализ или лечение препаратами железа.

1.4. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного, 6 калибровочных образцов и 1 пробы контрольного образца (всего 96 определений при использовании всех стрипов планшета) или 27 неизвестных, 18 калибровочных и 3 проб контрольных образцов (при трех независимых постановках анализа).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа. В лунках, при добавлении исследуемого образца и конъюгата моноклональных антител к ферритину с пероксидазой, во время инкубации одновременно происходит связывание ферритина с моноклональными антителами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок, и конъюгатом моноклональных антител с пероксидазой. Во время инкубации с раствором тетраметилбензидина происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски пропорциональна концентрации ферритина в анализируемых образцах. После измерения величины оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочного графика рассчитывается концентрация ферритина в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилучных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности моноклональными антителами к ферритину, готовый для использования – 1 шт.;
- калибровочный образец, содержащий 0 нг/мл ферритина – 1 флакон (9,0 мл);
- калибровочные образцы на основе сыворотки крови человека, аттестованные относительно стандарта «Lipocheck Tumor Marker Control» (фирма BioRad), содержащие известные количества ферритина – 20; 50; 100; 200; 500 нг/мл; концентрации ферритина в калибровочных образцах могут не-

- сколько отличаться от указанных величин, точные величины указаны на этикетках пробирок, инактивированные, готовые для использования – 5 пробирок (по 0,2 мл);
- контрольный образец на основе сыворотки крови человека с известным содержанием ферритина, инактивированный, готовый для использования – 1 пробирка (0,2 мл);
 - конъюгат моноклональных антител к ферритину с пероксидазой хрена, концентрат – 1 флакон (1,4 мл);
 - раствор для разведения конъюгата (РРК) – 1 флакон (13,0 мл);
 - 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28,0 мл);
 - субстратный буферный раствор (СБР) – 1 флакон (13,0 мл);
 - тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 флакон (1,0 мл);
 - стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленкой для заклеивания планшета – 1 шт.;
- трафаретом для построения калибровочного графика – 1 шт.;
- ванночкой для реагентов – 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 4–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность. Не обнаружено перекрестной реакции обоих моноклональных антител с сывороточным альбумином, гемоглобином, трансферрином, альфа-фетопротеином и хлоридом железа.

3.2. Воспроизводимость. Коэффициент вариации результатов определения содержания ферритина в одном и том же образце сыворотки крови с использованием набора Ферритин-ИФА-БЕСТ не превышает 8%.

3.3. Линейность. Зависимость концентрации ферритина в образцах сыворотки крови имеет линейный характер в диапазоне концентраций 20–500 нг/мл. Отклонение от расчетной величины концентраций ферритина в образцах сыворотки крови не превышает 10%.

3.4. Точность. Данный аналитический параметр проверяется тестом на «открытие» – соответствие измеренной концентрации ферритина, предписанной в образце, полученной путем смешивания равных объемов контрольного образца и калибровочного образца 50 нг/мл. Процент «открытия» составляет 90–110%.

3.5. Чувствительность. Минимальная достоверно определяемая набором концентрация ферритина не превышает 2,5 нг/мл.

3.6. Хук-эффект высоких концентраций.

При использовании набора Ферритин-ИФА-БЕСТ хук-эффект не обнаружен вплоть до концентрации ферритина 10 000 нг/мл.

3.7. Клиническая проверка. Содержание ферритина измеряли в сыворотке крови, взятой у 160 здоровых мужчин в возрасте 30–45 лет, у 110 здоровых женщин в возрасте 20–45 лет и у 105 женщин в возрасте 20–35 лет на разных сроках беременности. Средняя концентрация ферритина у мужчин составила 125 нг/мл, у женщин – 86 нг/мл. В первом триместре беременности средняя концентрация ферритина в сыворотке составила 70 нг/мл, во втором триместре – 38 нг/мл, в третьем – 16 нг/мл.

3.8. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить значения концентрации ферритина, соответствующие нормальным у здоровых людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки,

так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- шейкер термостатируемый орбитального типа, позволяющий производить встряхивание при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 400–800 об/мин;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 20, 50, 100 и 1000 мкл;
- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости 20, 50, 100 и 300 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- флаконы вместимостью 30 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл;
- колбы вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- бумага фильтровальная лабораторная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизированную, мутную сыворотку крови, а также сыворотку крови, содержащую азид натрия.

6.2. Образцы сыворотки крови можно хранить при температуре 2–8°C не более 5 сут или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 3 мес.

Повторное размораживание образцов сыворотки крови не допускается. После размораживания образцы тщательно перемешать.

6.3. Образцы сывороток крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 1000–1500 об/мин в течение 5 мин при температуре 18–25°C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки (плазмы) крови следует выдержать при температуре 18–25°C в течение времени не менее 30 мин.

7.2. Подготовка планшета

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Хранить при температуре 2–8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Приготовление рабочего промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре 30–40°C до полного растворения осадка.

В таблице 1 приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

Приготовленный рабочий промывочный раствор можно хранить при температуре 2–8°C не более 5 сут.

7.4. Приготовление калибровочных образцов и контрольного образца

Калибровочные и контрольный образцы готовы к использованию.

Перед проведением анализа пробирки с калибровочными образцами и контрольным образцом встряхнуть или центрифугировать на микроцентрифуге так, чтобы капли растворов со стенок и крышки опустились на дно. Затем содержимое пробирок тщательно перемешать пипетированием, избегая вспенивания.

После отбора части содержимого тщательно укуренные пробирки хранить при температуре 2–8°C в течение всего срока годности набора.

7.5. Приготовление рабочего раствора конъюгата

Готовится из концентрата конъюгата и раствора для разведения конъюгата за 5–10 мин до начала анализа.

Допускается хранение приготовленного раствора в течение 3 ч при температуре 18–25°C.

В таблице 1 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

В соответствии с числом используемых стрипов в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество РРК, добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

7.6. Приготовление рабочего раствора тетраметилбензида

Готовится из концентрата тетраметилбензида и субстратного буферного раствора за 5–10 мин до окончания инкубации. Допускается хранение приготовленного раствора в течение 3 ч при температуре 18–25°C в защищенном от света месте.

В таблице 1 приведен расход реагента в зависимости от количества используемых стрипов.

В соответствии с числом используемых стрипов в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество СБР, добавить соответствующее количество концентрата тетраметилбензида, тщательно перемешать.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.7. Внести в соответствующие лунки в дуб-лях по 20 мкл каждого калибровочного образца и по 20 мкл контрольного образца. В остальные лунки внести в дублях по 20 мкл анализируемых образцов сыворотки крови.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 10–15 мин при использовании всех лунок планшета.

7.8. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 7.5.).

Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

7.9. Планшет закрыть пленкой и инкубировать в течение 30 мин при встряхивании на шейкере при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 700 об/мин.

7.10. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.3.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 350 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

7.11. Внести во все лунки по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензида (см п. 7.6.) и инкубировать в темноте в течение 15 мин при температуре 18–25°C.

Для внесения рабочего раствора тетраметилбензида использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники.

7.12. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и рабочий раствор тетраметилбензида, по 100 мкл стоп-реагента. Встряхнуть планшет на шейкере в течение 10–15 сек; при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на фотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм; или при длине волны 450 нм (выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк»)) осуществлять по воздуху). Измерение проводить не позднее 10 мин после остановки реакции.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Построить в линейных координатах калибровочный график зависимости оптической плотности (ед. опт. плотн.) от заданной концентрации ферритина в калибровочных образцах (нг/мл).

9.2. Определить содержание ферритина в контрольном образце и анализируемых пробах по калибровочному графику.

9.3. Если концентрация ферритина в анализируемых образцах сыворотки крови превышает 500 нг/мл, образец следует развести калибровочным образцом 0 нг/мл в 10 раз (10 мкл исследуемого образца + 90 мкл калибровочного образца 0 нг/мл), повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

9.4. Построение калибровочного графика необходимо проводить для каждого независимого эксперимента, а также рекомендуется определение концентрации ферритина в контрольном образце.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов Ферритин-ИФА-БЕСТ должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2–8°C в течение всего срока годности (12 мес). Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.

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

10.3. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, СБР, ТМБ, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы в наборах АО «Вектор-Бест».

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации ферритина в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

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.

2. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

- перед проведением анализа пробирки с калибровочными пробами и контрольным образцом встряхнуть или центрифугировать на микроцентрифуге так, чтобы капли растворов со стенок и крышки опустились на дно. Затем содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе или пипетированием, избегая образования пены. *Не допускать образования пены! Использовать для каждой пробирки отдельный наконечник!*
- не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;
- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором ТМБ;
- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;
- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);
- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и ТМБ;
- для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники;
- посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции; после работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой;
- перед отбором ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;
- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется;
- нельзя использовать реагенты из наборов других фирм-производителей;
- замораживание компонентов набора не допускается;
- для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (перекись водорода, деохлор, хлорамин), в помещениях, где проводят ИФА, приводит к серьезному искажению результатов.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

- Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

- Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.
- Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.
- Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.
- Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

4. Условия правильности работы набора

Результаты анализа исследуемых образцов учитывать, если будут выполнены следующие условия:

- соотношение оптических плотностей калибровочных образцов: $ОП_0 < ОП_{20} < ОП_{50} < ОП_{100} < ОП_{200} < ОП_{500}$;
 - $ОП_{500} \geq 1,0$ ед. опт. плотн. (о.е.);
 - $ОП_0 \leq 0,2$ о.е.;
 - вычисленное по калибровочному графику значение концентрации ферритина в контрольном образце попадает в пределы, указанные на этикетке флакона.
- $ОП_0$, $ОП_{20}$, $ОП_{50}$, $ОП_{100}$, $ОП_{200}$ и $ОП_{500}$ – среднее значение оптической плотности калибровочных образцов 0, 20, 50, 100, 200 и 500 нг/мл соответственно.

5. Расчет результатов анализа

По результатам измерения вычислить среднее арифметическое значение оптической плотности (ОП) в лунках с анализируемыми образцами.

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности (ось ординат) от концентрации ферритина (ось абсцисс) в калибровочных образцах. Для этого на прилагаемом трафарете для построения графика против концентрации каждого калибровочного образца отложить соответствующее ей среднее значение оптической плотности. Последовательно соединить полученные точки отрезками прямых линий.

Пример калибровочного графика представлен на рисунке.

Определить концентрацию ферритина в контрольном образце и анализируемых образцах по калибровочному графику. Для этого на оси ординат отметить значение ОП анализируемого образца. Провести прямую линию, параллельно оси абсцисс, до пересечения с калибровочным графиком. От точки пересечения опустить перпендикуляр на ось абсцисс. По полученной точке пересечения определить значение концентрации ферритина в образце.

В случае предварительного разведения анализируемых образцов (п. 9.3.) полученную концентрацию ферритина умножить на фактор разведения.

При использовании для расчетов концентраций компьютерного или встроенного в спектрофотометр программного обеспечения в настройках выбрать метод, соответствующий кусочно-линейной аппроксимации.

6. Диагностическая значимость

Ферритин представляет собой растворимый комплекс белка апоферритина с гидроксифосфатом железа. Одна молекула ферритина может содержать до 4000 молекул железа. Наибольшее количество ферритина находится в клетках печени, селезенки, костного мозга и ретикулоцитах, где наиболее интенсивно проходят процессы синтеза, созревания и деградации эритроцитов. Ферритин активно участвует в метаболизме и перераспределении железа в организме. В небольших количествах ферритин присутствует также в сыворотке крови, где выполняет функцию транспорта железа от ретикулоэндотелиальных к паренхиматозным клеткам печени. Хотя ферритин сыворотки содержит всего 20–25% железа, его уровень в сыворотке крови отражает запасы железа в организме. Для здоровых людей был предложен коэффициент пересчета – 1 нг ферритина в 1 мл сыворотки соответствует 8 мг (143 мкмоль) железа, хранимого в депо.

В таблице 2 представлено содержание ферритина в сыворотке крови в норме.

Концентрация ферритина в первый месяц после рождения повышена в связи с переходом от фетальной формы гемоглобина к взрослой.

У женщин репродуктивного возраста содержание ферритина в сыворотке крови значительно меньше, чем у мужчин. Это связано с ежемесячными физиологическими кровопотерями, а также с деторождением. За весь период беременности дополнительно расходуется около 1 г железа, что явно прослеживается в прогрессивном снижении ферритина в крови.

В третьем триместре беременности концентрация ферритина минимальна и граничит со значениями, характерными для железодефицитной анемии. Лактация также сопровождается повышенным расходом железа, так как молочная железа продуцирует белок с подобными трансферрину свойствами – лактоферрин. В постменопаузальный период содержание железа и концентрация ферритина в организме женщин возрастают, приближаясь к показателям у мужчин.

В случае перегрузки организма железом концентрация ферритина превышает 400–500 нг/мл, а при ярко выраженном гемохроматозе может достигать 10 000 нг/мл и более.

Низкие значения ферритина (ниже 10 нг/мл) – первый показатель уменьшения запасов железа в организме. Определение ферритина в клинической практике позволяет проводить дифференциальную диагностику нарушений метаболизма железа и анемий, а также следить за развитием опухолей. Для дифференциальной диагностики различных заболеваний определение ферритина рекомендуется в комплексе с оценкой уровней гемоглобина, сывороточного железа и общей железосвязывающей способностью (ОЖСС).

Измерение сывороточного ферритина имеет клиническую значимость также при мониторинге железа в организме беременных женщин, доноров крови и пациентов, проходящих гемодиализ.

Повышение содержания ферритина выявляется при состояниях с избыточным содержанием железа (при гиперхроматозе, некоторых заболеваниях печени), при воспалительных процессах (легочные инфекции, остеомиелит, арт-рит, системная красная волчанка, ожоги), при некоторых острых и хронических заболеваниях с поражением печеночных клеток (алкогольное поражение печени, гепатит), при раке молочной железы, остром миелобластном и лимфобластном лейкозе, лимфогранулематозе. Наибольшее значение определение ферритина имеет при подозрении на железодефицитную и гемолитическую анемию с внутрисосудистым гемолизом.

Определение ферритина в диагностике опухолевого роста основано на том, что в отдельных органах и тканях с новообразованиями нарушается депонирование железа, что приводит к увеличению уровня ферритина в сыворотке. Процесс гибели опухолевых клеток также сопровождается выбросом ферритина и увеличением его содержания в крови.

7. Краткая схема проведения ИФА для набора реагентов «Ферритин-ИФА-БЕСТ»

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести: по 20 мкл калибровочных и контрольного образцов в дуб-лях;
по 20 мкл анализируемых образцов в дублях.

Внести: по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.

Инкубировать: 30 мин, 37°C, 700 об/мин.

Промыть: промывочным раствором,
350 мкл, 5 раз.

Внести: по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.

Инкубировать: 15 мин, 18–25°C, в темноте.

Внести: по 100 мкл стоп-реагента.

Измерить: ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

Таблица 1

Кол-во используемых	Рабочий рас- твор конъюгата		Рабочий рас- твор тетраметилбен- зидина		Рабочий промывоч- ный раствор	
	Конъюгат, мл	РРК, мл	ТМБ, концен- тр.	СБР, мл	ФСБ-Т, концен- тр.	Дистил. вода,
2	0,2	1,8	0,1	2,0	4,0	96
4	0,4	3,6	0,2	4,0	8,0	192
6	0,6	5,4	0,3	6,0	12,0	288
8	0,8	7,2	0,4	8,0	16,0	384
10	1,0	9,0	0,5	10,0	20,0	480
12	1,2	10,8	0,6	12,0	24,0	576

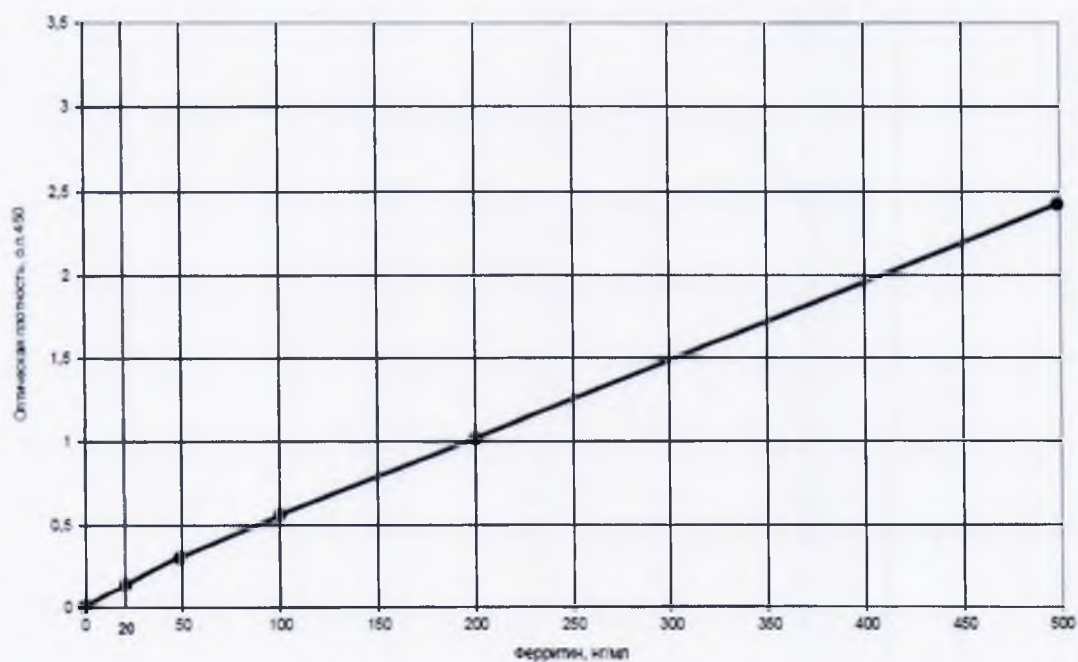


Рис. Пример зависимости оптической плотности от концентрации ферритина в калибровочных образцах.

Таблица 2

Возраст	Содержание ферритина, нг/мл (мкг/л)
Новорожденные	25–200
1 месяц	200–600
6 месяцев – 15 лет	30–140
Взрослые:	
мужчины	20–350
женщины	10–150
Беременность:	
первый триместр	60–90
второй триместр	25–70
третий триместр	10–15

Графические символы

	Изготовитель		Дата изготовления
	Код партии		Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению.		Использовать до....
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Не стерильно		Не допускать воздействия солнечного света

**По вопросам, касающимся качества набора
«Ферритин-ИФА-БЕСТ»,
следует обращаться в АО «Вектор-Бест»
по адресу:**

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 227-67-64,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: **(383) 363-05-97.**