

## «ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної  
служби України з лікарських засобів  
09 листопада 2012 р.

I.B. Демченко

Код за НК 024:2023 – 60037

## «ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”

Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

I.P. Семенів

# ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРИДІВ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

## ПРИЗНАЧЕННЯ

IVD

Набір призначений для визначення концентрації хлоридів у біологічних рідинах в клініко-діагностичних і біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований (з урахуванням холостих та калібрувальних проб) на відповідну кількість визначень хлоридів (Див. *Примітку 8*).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>HP025.03</u>	120	60	30	<u>HP025.04</u>	300	150	75

Діапазон визначаємих концентрацій - від 20 ммол/л до 160 ммол/л.

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 3 %.

Чутливість  $^{10}$  на 0,001 од. оптичної щільноті – не більше 0,2 ммол/л (450 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °C до плюс 16 °C.

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяця від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

## ПРИНЦИП МЕТОДУ <sup>2</sup>

Хлорид-іон у сильно кислому середовищі звільняє з роданіду ртуті (II) іон роданіду, що реагує з іонами заліза (III) з утворенням забарвленого продукту. Інтенсивність забарвлення роданіду заліза, що утворився, пропорційна концентрації іонів хлориду в пробі.

## СКЛАД НАБОРУ

### 1. Робочий реагент

- тіоціанат ртуті (II) -  $(2,0 \pm 0,2)$  ммол/л
- азотна кислота -  $(0,50 \pm 0,05)$  моль/л
- нітрат заліза (III) -  $(25,0 \pm 2,5)$  ммол/л
- нітрат ртуті (II) -  $(75,0 \pm 7,5)$  мкмоль/л

### 2. Калібрувальний розчин хлориду $(100 \pm 1)$ ммол/л

HP025.03 - 1 флакон з  $(120 \pm 4)$  мл;  
HP025.04 - 3 флакони по  $(100 \pm 2)$  мл;

HP025.03, HP025.04 -  
- 1 флакон з  $(6,0 \pm 0,5)$  мл.

## ЗРАЗОК

Сироватка або плазма (унікати гемолізу), цільна кров, спинномозкова рідина (СМР), піт (іонтофорез), сеча.

В якості антикоагулантів не рекомендується використовувати ЕДТО, оксалати і гепарин.

Підготовка зразка засі: Зразок розводять у 2 рази бідистильованою або деіонізованою водою і додають краплю азотної кислоти до кислого pH. Термін зберігання зразка -1 тиждень при температурі від плюс 4 °C до плюс 8 °C.

## ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, що забезпечує вимірювання оптичної щільноти розчинів при довжині хвилі **450 (440-480)** нм у діапазоні  $(0-1,0)$  од. опт. щільноті та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм (**Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача.**)
2. Пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).
3. Піпетки місткістю 0,1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

## ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Всі розчини готові для роботи. Придатні для роботи до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови зберігання при температурі від плюс 2 °C до плюс 16 °C. Максимальна екстинція Робочого реагенту **проти води при 450 нм – 0,15** од. опт. щільності.

### ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1

**Таблиця 1**

Відміряти в кювету, мл	Калібрувальна проба			Дослідна проба		
	Мікро	Напів- мікро	Макро	Мікро	Напів- мікро	Макро
Робочий реагент	1,00	2,00	4,00	1,00	2,00	4,00
Зразок	-	-	-	0,01	0,02	0,04
Калібрувальний розчин	0,01	0,02	0,04	-	-	-

Змішують і витримують **(20 ± 1) хв** при кімнатній температурі. Вимірюють (не пізніше **(30 ± 5) хв** оптичну щільність дослідної проби ( $E_{\text{досл.}}$ ) і калібрувальної проби ( $E_{\text{кал.}}$ ) проти робочого реагенту. Фотометрування – див. розділ «Обладнання».

### РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТИВ

Розрахунок концентрації хлоридів проводять за формулою (1):

$$C = \frac{E_{\text{досл.}}}{E_{\text{кал.}}} \times 100, \text{ де} \quad (1)$$

100 – концентрація хлоридів у калібрувальному розчині, ммол/л;

$E_{\text{досл.}}$  - оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{кал.}}$  - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності;

C – концентрація хлоридів у дослідній пробі, ммол/л.

Для розрахунку кількості хлоридів у добовій сечі отримане вище значення множать на 2 (коєфіцієнт розведення) і об'єм добової сечі, виражений у літрах (одержують ммол/добу).

### ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліциди < 6 г/л) та білірубін (< 1200 мг/л), альбумін до 150 г/л не впливають на хід визначення.

1. Медикаментозні субстанції, що підвищують рівень хлоридів у крові: ацетазоламід, андрогени, холестирамін, діазоксид, естрогени, гуанетидін, метилдопа, оксифенбутазон, фенілбутазон, тіазиди (тривала терапія), триамтерен (нефротоксичний ефект)<sup>6</sup>.
2. Медикаментозні субстанції, що знижують рівень хлоридів у крові: бікарбонати, карбеноксолон, кортиcotропін, діуретики (наприклад, буметанід, етакринова кислота, фуросемід, манітол, метолазон, тіазиди, триамтерен), проносні (хронічне застосування), теофілін<sup>6</sup>.
3. При визначенні інтерферують броміди, йодіди і речовини, що утворюють стійкі комплекси з залізом (ІІІ), наприклад, ацетилсаліцилова і саліцилова кислоти, та їх похідні.

На хід визначення також можуть робити вплив гемоліз, ліки та інші речовини<sup>9</sup>.

### КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями концентрації, визначеними даним методом. Наприклад: "ФілоНорм" або „ФілоПат” (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

## **ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ**

Робочий реагент - містить розчинні солі ртуті - отруйні речовини. При роботі з набором необхідно ретельно дотримуватись правил особистої гігієни, забороняється їсти, пити і палити, необхідно використовувати гумові рукавички. Після закінчення роботи варто вимити руки теплою водою і мілом.

При попаданні реактивів зняти забруднений одяг, шкіру відмити водою з мілом. При влученні реактивів в очі їх варто негайно промити водою. При випадковому прийомі всередину негайно випити білок із яйця, молоко або 2 % розчин бікарбонату натрію і викликати блювоту. В усіх випадках повинна бути надана медична допомога.

## **РЕФЕРЕНТНІ МЕЖІ**

<b>Сироватка або плазма, норма</b>	<b>Піт (іонтофорез)<sup>3</sup></b>
- Кров із пуповини <sup>3</sup> : 90 – 104 ммоль/л,	- Норма: до 35 ммоль/л
- Недоношені немовлята <sup>3</sup> : 95 – 110 ммоль/л,	- Гранічні значення: 30 – 70 ммоль/л
- 0-30 днів <sup>3</sup> : 98 – 113 ммоль/л,	- Муковісцидоз: 60 – 200 ммоль/л
- Дорослі <sup>4</sup> : 98 – 107 ммоль/л,	<b>Сеча, добова, норма*</b>
- >90 років <sup>5</sup> : 98 – 111 ммоль/л.	- Діти до 6 років <sup>8</sup> : до 40 ммоль/добу
<b>Цільна кров, норма</b>	- 6 – 10 років, Ч: 36 – 110 ммоль/добу
- Дорослі <sup>6</sup> : 77 – 87 ммоль/л	- Ж: 18 – 74 ммоль/добу
CMP (спинномозкова рідина), норма	- 10 – 14 років, Ч: 64 – 176 ммоль/добу
- Діти <sup>7</sup> : 110 – 130 ммоль/л	- Ж: 36 – 173 ммоль/добу
- Дорослі <sup>3</sup> : 118 – 132 ммоль/л	- Дорослі <sup>3</sup> : 250 ммоль/добу
	- старші 60 років: 95 – 195 ммоль/добу

\* Значення істотно змінюються в залежності від проходження через шлунково-кишковій тракт.

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

## **ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

Біологічна роль хлору полягає в підтримці осмотичного тиску і кислотно-основного стану позаклітинної рідини, участі в газообмінній функції еритроцитів, участі в утворенні соляної кислоти шлункового соку, активації амілази, знешкодженні продуктів патологічного розпаду тканин.

У патології хлору розрізняються гіпо- і гіперхлорплазмією.

Гіпохлорплазмія спостерігається при недостатньому надходженні іонів з їжею і надлишкових втратах його при захворюваннях, що супроводжуються обезводненням організму (проноси, блювота, поліурія, посилене потовиділення). Значні зниження рівня хлора в плазмі крові можуть призводити до порушення моторики кишечника, аж до його парезу, судом, олігурії.

Гіперхлорплазмія зустрічається при підвищенному надходженні NaCl із їжею, при затримці рідини в організмі у вигляді набряків і транссудатів в порожнинах, при порушенні його виведення із сечею внаслідок нефриту, а також при підвищенні секреції альдостерону.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

## **ПРИМІТКИ**

1. Об'єми розчинів, що реагують, можна пропорційно змінити, зберігаючи *співвідношення робочий розчин : зразок = 100 : 1*.

2. Якщо **концентрація** хлоридів у зразку **перевищує 160 ммоль/л**, його розводять у співвідношенні 1:1 дистильованою водою. Отриманий результат множать на 2.

3. Якщо **концентрація** хлоридів у зразку **нижче 20 ммоль/л**, об'єм біологічної рідини, що додається в дослідну і холосту проби, збільшують удвічі, калібрувальна проба ставиться відповідно до таблиці 1. Отриманий результат множать на 0,505.

4. Кювети і посуд, що використовуються при аналізі, повинні бути бездоганно чистими, призначеними винятково для аналізу хлоридів. Мити використовуємий посуд рекомендується хромовою сумішшю або 10% розчином азотної кислоти (залишати в них посуд на ніч), потім ретельно промити дистильованою водою і нарешті деіонізованою водою (або бідистилятом) та висушити.

5. **Визначення проби та калібратору варто проводити при постійній температурі. Зміна температури під час вимірювань приводить до змінення екстинції.**

6. Роданід заліза фотолабільний, тому при проведенні аналізу пробірки варто зберігати від яскравого світла.

7. У випадку збереження набору при низькій температурі в робочому реагенті з'являється осад (помутніння), що після нагрівання до температури плюс 25°C (не нагрівати до більш високих температур) і енергійного струшування розчиняється.

8. **Розраховано на загальний об'єм реакційної суміші: 4,04 мл (макро-), 2,02 мл (напівмікро-), 1,01 мл (мікро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

*Робочий реагент : Аналізумий розчин = 100 : 1*

### **УТИЛІЗАЦІЯ**

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

### **ЛІТЕРАТУРА**

1. D.Zall, D.Fischer, M.Graner: Anal. Chem. 28, 1665 (1956).
2. Clauss et all.: Berischte z. Klinischen Chemie 5, (1969).
3. N.W. Tietz, E.L. Pruden and O. Siggaard-Andersen: Electrolytes. C.A. In Burtis and E.R. Ashwood (Eds.): Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia, W.B. Saunders Co., (1994).
4. W. Nyhan and N. Sakait: Diagnostic Recognition of Genetic Disease. Philadelphia, Lea & Febiger, (1987).
5. N.W. Tietz, D.F. Shuey and D.R. Wekstein: Laboratory values in fit aging individuals – sexagenarians through centenarians. Clin. Chem., 38, 1167-1185, (1992).
6. Энциклопедия клинических лабораторных тестов, под редакцией Н.У. Тица, перевод с англ. под редакцией Меньшикова, стр. 500-503, «Лабинформ», Москва, 1997.
7. R.D. Eastham, Biochemical Values in Clinical Medicine, 7th ed. Bristol, England, John Wright and Sons, Ltd (1985).
8. N. Liappis and P. Reimnitz: Referenzwerte der Natrium-, Kalium-, Kalzium-, Chlorid-, und anorganischen Phosphat Ausscheidung im 24 h-urin gesunder Kinder. Klin.Padiatr., 196, 367-369, (1984).
9. Schoenfeld R G et al. Clin Chem 1964 (10); 533-539.
10. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).

**FELICIT**



**ТОВ НВП «Фелісіт-Діагностика»,**  
Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32  
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34  
Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54  
E-mail: filicit@ukr.net http://www.felicit.com.ua