

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МІДІ У СИРОВАТЦІ КРОВІ

ПРИЗНАЧЕННЯ



Набір призначений для визначення концентрації міді у сироватці крові в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований (з **урахуванням холостих та калібрувальних проб**) на відповідну кількість визначень міді (Див. **Примітку 4**).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>HP043.01</u>	50	25	12	<u>HP043.02</u>	25	12	6

Діапазон визначаємих концентрацій: від 0,47 мкмоль/л до 78,7 мкмоль/л (від 3 мкг% до 500 мкг%).

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,25 мкмоль/л (580 нм).

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 5 %.

Уникати влучення прямих сонячних променів!

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

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

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Мідь є важливим мікроелементом і пов'язана з кількістю металопротеїназ. Це невід'ємна частина багатьох металоферментів, такого як церулоплазмін. Дефіцит міді характеризується уповільненим ростом і мікроцитарною анемією. Мідь дисоціює з церулоплазміну при слабнокислому рН, потім вступає в реакцію з кольоровим реагентом з утворенням стабільного забарвленого хелату. Інтенсивність кольору прямо пропорційна кількості міді в зразку ¹.

СКЛАД НАБОРУ

- Кольорореагент для міді
 - ацетатний буфер (200 ± 20) ммоль/л **HP043.01** - 2 флакони по (25 ± 1) мл;
 - 3,5-DiBr-PAESA - (0,10 ± 0,01) ммоль/л **HP043.02** - 1 флакон з (25 ± 1) мл;
 - стабілізатори, активатори
- Калібрувальний розчин міді
(точне значення концентрації зазначено на флаконі з калібрувальним розчином) **HP043.01, HP043.02**
- 1 флакон з (3,0 ± 0,2) мл.

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, що забезпечує вимір оптичної щільності розчинів при довжині хвилі **580 (570-590)** нм у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм (**можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача**).
- Пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).
- Піпетки місткістю 0,1; 1,0 і 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).
- Водяний термостат або автоматична водяна баня, що підтримують температуру плюс (37 ± 1) °С (у випадку проведення аналізу при цій температурі) (згідно з чинними нормативними документами).

ЗРАЗОК

Сироватка (без гемолізу). Досліджувані сироватки повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові.

Зразки стабільні протягом 24 годин при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С або 15 днів при мінус 20 °С.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Всі розчини готові для роботи. Придатні після відкупорювання флаконів на протязі місяця при зберіганні від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1:

Таблиця 1

Відміряти у пробірку, мл	Калібр. або дослідна проба			Холоста проба		
	Макро	Напівмікро	Мікро	Макро	Напівмікро	Мікро
Калібрувальний або аналізуємий розчин	0,2	<i>0,1</i>	0,05	-	-	-
Дистильована вода	-	-	-	0,2	<i>0,1</i>	0,05
Кольорореагент для міді	4,0	<i>2,0</i>	1,00	4,0	<i>2,0</i>	1,0
Змішати, витримати (5,0 ± 0,5)хв при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С), або 5 хв при температурі плюс 37 °С. Виміряти оптичну щільність калібрувальної (Е _{кал}) та дослідної проби (Е _{досл}) проти холостої проби . Забарвлення стабільне протягом (20±2) хв . Фотометрування – див. розділ “Обладнання”.						

РЕФЕРЕНТНІ МЕЖІ

Сироватка або плазма, норма	мкг/100 мл (мкг %)	мкмоль/л
▪ < 6 місяців	20 - 70	3,1 - 11
▪ 6 років	90 - 190	14,1 – 29,8
▪ 12 років:	80 - 160	12,6 – 25,1
▪ Дорослі:		
Жінки	80 - 155	12,6 - 24,4
Чоловіки	70 - 140	11 - 22
▪ > 60 років:		
Жінки	85 - 190	13,3 – 29,8
Чоловіки	85 - 170	13,3 - 26,7
▪ Наприкінці вагітності	118 - 302	18,5 – 47,4

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

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок концентрації міді проводять за формулою (1):

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

- C_{кал} – концентрація міді в калібрувальному розчині, мкмоль/л (мкг%);
- E_{досл} - оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;
- E_{кал} - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності;
- C – концентрація міді в дослідній пробі, мкмоль/л (мкг%).

ПЕРЕРАХУНОК

$$\begin{aligned} \text{мкг/100 мл (мкг \%)} &\times 0,157 = \text{мкмоль/л} \\ \text{мкмоль/л} &\times 6,354 = \text{мкг/100 мл (мкг \%)} \end{aligned}$$

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: **Diacon N**, **Diacon P** (Австрія).

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.

ПРИМІТКИ

1. Якщо **концентрація міді** в зразку перевищує **78,7 мкмоль/л (500 мкг/л)**, його розводять у співвідношенні **1 : 9** фізіологічним розчином (NaCl - 9 г/л). Отриманий результат множать на 10.
2. Рекомендовано використовувати одноразові витратні матеріали. Кювети і посуд, що використовуються при аналізі, повинні бути абсолютно чистими, спеціально підготовленими, тобто замоченими на декілька годин у HNO₃ (концентрація біля 2 моль/л), а потім ретельно промити дистильованою водою (до 10 разів) та висушеними.
3. Визначення проби та калібратору варто проводити при постійній температурі. Зміна температури під час вимірювань приводить до змінення екстинкції.
4. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 1,0 мл (мікро-), 2,0 мл (напівмікро-), 4,0 мл (макро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

Кольорореагент для міді : Аналізуємий розчин = 100 : 5.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Мідь, що міститься в їжі, всмоктується в дванадцятипалій кишці, з подальшим транспортуванням до печінки, зв'язаним з альбуміном, і, як правило, виводиться фекально з жовчю. Невелика частина зв'язується з апоцерулоплазміном у печінці, досягаючи тканин через кровотік.

90-95% міді плазми міститься в мідному окислювальному ферменті, церулоплазміні. Мідь є невід'ємним компонентом принаймні 16 незамінних металопротеїнів, що впливає в організмі переважно на формування сполучної тканини, функцію центральної нервової системи та кровотворення. Визначення **міді** в плазмі і / або оксидазної активності церулоплазміну використовується для оцінки змісту міді в організмі. Всмоктування міді може бути порушено при дифузних ураженнях тонкої кишки і при великому надходженні в організм конкуруючих іонів заліза, цинку і кадмію. Дефіцит міді спостерігається у дітей (особливо недоношених), які отримують молочне харчування з дефіцитом міді, у хворих, які тривалий час отримували парентеральне харчування розчинами з недостатнім вмістом мікроелементів або отримують лікування цинком або хелатами міді, такими, як пеніциламін.

Прояви дефіциту міді включають нейтропенію, анемію (резистентну до препаратів заліза), остеопороз, різні кістково-суглобові порушення, зниження пігментації шкіри і, можливо, патологію з боку нервової та серцево-судинної систем. Генетично зумовлені порушення метаболізму міді включають:

- хвороба Вільсона-Коновалова (гепатолентикулярну дегенерацію), при якій концентрація міді і церулоплазміну в сироватці знижується внаслідок зменшення синтезу церулоплазміну в печінці, тоді як сироватковий іонізований кальцій, екскреція міді з сечею і рівень міді в печінці зростають.

- хвороба з накопиченням міді, і рідко зустрічається синдром "сталевого волосся" Менкеса.

Зміст міді підвищується в спинномозковій рідині при інсульті та в синовіальній рідині при РА. Симптоми отруєння солями міді включають нудоту, блювоту, головний біль, пронос і болі в животі. Надалі можуть розвиватися ураження печінки, жовтяниця і гемолітичний шок. Отруєння міддю може наступити при введенні мідьвмісних розчинів, використанні мідьвмісних внутрішньоматкових спіралей або впливі мідьвмісних фунгіцидів.

Підвищення вмісту міді в сироватці зазвичай спостерігається при гострих і хронічних інфекціях, при різних пухлинах, особливо також у випадках ураження печінки, пов'язаного з порушенням відтоку жовчі, при раку клітин печінки та в поєднанні з екзокринною недостатністю підшлункової залози.

Вік, інфекції і запалення, вагітність, лейкоз, біліарний цироз, черевний тиф, лімфогранулематоз, пелагра, туберкульоз легенів, більшість анемій, велика і мала таласемії, ревматизм, гострий інфаркт міокарда, інсульт, анкілозуючий спондиліт, ревматоїдний артрит, гіпо- та гіпертиреоз, колагенові хвороби, ВКВ, ускладнення гемодіалізу і гемотрансфузій у новонароджених, травма і злоякісні пухлини шлунково-кишкового тракту, легенів, кісток, молочної залози, шийки матки і кровотворної системи можуть призводити до **підвищення рівня міді** в сироватці крові.

Підвищений вміст міді в сироватці крові зазвичай спостерігається в останньому триместрі вагітності, а також при прийомі естрогену та оральних контрацептивів (синтез церулоплазміну в печінці істотно зростає). В результаті концентрація Cu в плазмі майже вдвічі перевищує нормальний рівень. Рівень церулоплазміну в плазмі також підвищується при прийомі протиепілептичних засобів (карбамазепіну, фенобарбіта і фенітоїну).

Зниження рівня міді спостерігається в наступних випадках: хвороба Вільсона-Коновалова (40-60 мкг/100мл або 6,3-9,4 мкмоль/л), захворювання шлунково-кишкового тракту (спру, целіакія, ураження тонкої кишки), муковісцидоз, нефротичний синдром, синдром Менкеса, ремісія лейкозу під дією АКТГ або преднізолону, деякі залізодефіцитні анемії, опіки, диспротеїнемія, недостатність білкового харчування, хронічна ішемічна хвороба серця.

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

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Білірубін (< **150 мг/л**), гемоглобін (< **5 г/л**), тригліцериди (< **10 г/л**) не впливають. На хід визначення також можуть впливати інші ліки і речовини ^{4,5}.

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.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.

ЛІТЕРАТУРА

1. Tietz NW, Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
2. Abe. A. et al (1989) Clinical Chemistry 35:4 552-554.
3. Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).
4. Yound DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. Энциклопедия клинических лабораторных тестов под ред. Н.У.Тица, перевод под ред. В.В.Меньшикова, Москва, "Лабинформ", стр. 318-320 (1997).
7. Iyengar, G.v. and Woitties, J.: Trace elements in human specimens/ Clin.Chem., 34:474-481,1988.
8. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філісіт-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: filiclit@ukr.net <http://www.feliclit.com.ua>