

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

Код за НК 024:2023 – **60037**

ТУ У 24.4-24607793-019-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРИДІВ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

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>HP025.02</u>	240	120	60	<u>HP025.03</u>	120	60	30
<u>HP025.04</u>	300	150	75				

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

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 3 %.

Чутливість ¹⁰ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,2 ммоль/л (450 нм).

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

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяця від дня виготовлення.

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

ПРИНЦИП МЕТОДУ ²

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 ± 0,2) ммоль/л
- азотна кислота - (0,50 ± 0,05) моль/л
- нітрат заліза (III) - (25,0 ± 2,5) ммоль/л
- нітрат ртуті (II) - (75,0 ± 7,5) мкмоль/л

HP025.02 - 2 флакони по (120 ± 4) мл;

HP025.03 - 1 флакон з (120 ± 4) мл;

HP025.04 - 3 флакони по (100 ± 2) мл;

2. Калібрувальний розчин хлориду (100 ± 1) ммоль/л

HP025.02, HP025.03, HP025.04 -

- 1 флакон з (6,0 ± 0,5) мл.

ЗРАЗОК

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

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

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

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, що забезпечує вимір оптичної щільності розчинів при довжині хвилі **450 (440-480) 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**).
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 °С до плюс 16 °С. 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 РЕЗУЛЬТАТІВ

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, ммоль/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, ммоль/л.

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

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди < 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) ⁶.
2. Медикаментозні субстанції, **що знижують рівень хлоридів** у крові: бікарбонати, карбенексон, кортикотропін, діуретики (наприклад, буметанід, етакринова кислота, фуросемід, манітол, метолазон, тіазиди, триамтерен), проносні (хронічне застосування), теофілін ⁶.
3. При визначенні **інтерферують** броміди, йодіди і речовини, що утворюють стійкі комплекси з залізом (III), наприклад, ацетилсаліцилова і саліцилова кислоти, та їх похідні.

На хід визначення також можуть робити вплив гемоліз, ліки та інші речовини ⁹.

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 милом.

При попаданні реактивів зняти забруднений одяг, шкіру відмити водою з милом. 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

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

* Значення істотно змінюються в залежності від проходження через шлунково-кишковий 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 гіперхлорплазмію.

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 підвищеному 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 підвищеній 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 : Аналізуємий 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 al.: 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. Schoenfeid 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).



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: filicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>