

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЦИНКУ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ (З 5-BR-PAPS) (“ЦИНК”)

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

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

Набір розрахований (з **урахуванням холостих та калібрувальних проб**) на відповідну кількість визначень цинку (Див. **Примітку 7**).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
<u>HP044.01</u>	80	40	20	<u>HP044.02</u>	40	20	10

Діапазон визначених концентрацій – від 0,45 мкмоль/л до 76,5 мкмоль/л (від 3 мкг% до 500 мкг%).

Чутливість ⁸ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,2 мкмоль/л (560 нм).

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 4 %.

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

Цинк в зразку реагує з 2-(5-бром-2-піридулазо)-5-(N-пропіл-N-сульфопропіламіно)-фенолом (5-Br-PAPS) в лужному середовищі, формуючи стабільний забарвлений комплекс. Інтенсивність утвореного забарвлення, яке вимірюється при довжинах хвиль (**540-570**) нм, прямо пропорційне концентрації цинку ¹.

СКЛАД НАБОРУ

- Кольорореагент для цинку
 - бікарбонатний буфер (200 ± 10) ммоль/л
 - цитрат натрію (200 ± 10) ммоль/л
 - 5-Br-PAPS - (20 ± 1) мкмоль/л
 - діметилглюксим – (4,0 ± 0,2) ммоль/л
 - активатори
- Калібрувальний розчин цинку
(точне значення концентрації зазначено на флаконі з калібрувальним розчином)

HP044.01 - 2 флакони по (40 ± 2) мл;

HP044.02 - 1 флакон з (40 ± 2) мл;

HP044.01 , HP044.02 - 1 флакон з (3,0 ± 0,2) мл

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, що забезпечує вимір оптичної щільності розчинів при довжині хвилі **560 (540-570) нм** у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм та 5 мм (**Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора виходить 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 або гепаринізована плазма крові (без гемолізу), зразок натще вранці.

Досліджувані сироватки повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові (Див. **Примітку 2**) не пізніше, ніж через **45 хв** після взяття крові ⁶. **Не застосовувати** ЕДТО (етилендіамінтетраоцтова кислота) плазму. Уникайте контакту з гумовою пробкою. Уникайте використання мутних та ліпідних зразків. Зразки стабільні протягом 7 днів при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Еякулят. Центрифугувати зразок при 3000 об/хв протягом **10-15 хвилин**. Розвести супернатант 1/100 з NaCl 9 г/л та помножити результат на 100 (коефіцієнт розведення). Зразки стабільні протягом 7 днів при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Сеча. Перед тестуванням добову сечу, зібрану в промитий кислотою пластиковий одноразовий контейнер (Див. **Примітку 2**), необхідно відфільтрувати або центрифугувати. Підкислюють до рН 2,0 НСІ. Стійкий при кімнатній температурі.

СМР. Центрифугувати при 900 g і довести рН до 7,0. Аналізувати негайно! Зразок стабільний протягом 3-х діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С або 6 місяців при температурі мінус 20 °С. Досліджувані зразки не повинні містити крові.

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 цинку	4,0	<i>2,0</i>	1,00	4,0	<i>2,0</i>	1,0
Змішати, витримати 8 хв при кімнатній температурі (від плюс 18 °С до плюс 25 °С) або 5 хв при температурі плюс 37 °С. Виміряти оптичну щільність калібрувальної ($E_{\text{кал}}$) та дослідної проби ($E_{\text{досл}}$) проти холостої проби . Забарвлення стабільне протягом (30±2) хв . Фотометрування – див. розділ “Обладнання”.						

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок концентрації цинку проводять за формулою (1):

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

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

Для розрахунку концентрації цинку у добовій сечі отримане вище значення (мкмоль/л) множать на об'єм добової сечі, виражений у л (одержують мкмоль/добу), або значення (мкг%) множать на об'єм добової сечі, виражений в л та коефіцієнт 10 (одержують мкг/добу).

РЕФЕРЕНТНІ МЕЖИ

Рівень цинку в сироватці крові зазвичай на 5 - 15% перевищує рівень у плазмі крові завдяки цинку, що виділяється з тромбоцитів та еритроцитів під час згортання.

Під час вагітності та менструації концентрація може бути нижче норми.

Сироватка, норма	мкг/100 мл (мкг %)	мкмоль/л
▪ Новонароджені	49.5 - 99.7	7.6 - 15.3
▪ < 4 місяців	65 - 137	10 – 21
▪ 4-12 місяців	65 - 130	10 - 20
▪ 1-5 років:	65 - 118	10 - 18
▪ 6-9 років:	78 - 105	12 - 16
▪ 10-13 років:		
Жінки	78-118	12-18
Чоловіки	78-98	12-15
▪ 14-19 років:		
Жінки	59 - 98	9 - 15
Чоловіки	65 - 118	10 - 18
▪ Дорослі:	46 - 150	7 – 23
▪ Дорослі ⁷	70 – 120	10,7 – 18,4
▪ Дорослі ⁹	50 - 150	7,7 - 23,0
Сеча, разова , норма ⁶	(180 – 850) мкг/л	(2,8 – 13,0) мкмоль/л
Сеча, разова , норма ⁷	(361 – 599) мкг/л	(5,5 – 9,2) мкмоль/л
Сеча, разова , норма ⁹	(270 – 850) мкг/л	(4,1 – 13,0) мкмоль/л
Сеча, добова , норма ⁶	(150 – 1200) мкг/доба	(2,3 -18,4) мкмоль/доба
Сеча, добова , токсична концентрація ⁶	>1200 мкг/доба	>18,4 мкмоль/доба
СМР ¹¹	(10 – 46) мг/л	(1,53 – 7,04) ммоль/л

Центрифугований еякулят¹⁰ (2 – 10) мкг/100 мл (мкг %) (0,31 – 1,53) ммоль/л

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

ПЕРЕРАХУНОК

мкг/100 мл (мкг %) $\times 0,153 =$ ммоль/л

ммоль/л $\times 6,537 =$ мкг/100 мл (мкг %)

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 цинку** в зразку перевищує **76,5 ммоль/л (5000 мкг/л)**, його розводять у співвідношенні **1 : 1** фізіологічним розчином. Отриманий результат множать на 2.
2. Рекомендовано використовувати одноразові пластикові витратні матеріали. Кювети і посуд, що використовуються при аналізі, повинні бути цілком чистими, спеціально підготовленими, тобто замоченими на декілька годин у HNO_3 (концентрація біля 2 моль/л), а потім ретельно промитими бідистильованою 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. Підвищений рівень Zn в сироватці може виникати у хворих, які перебувають на гемодіалізі, у відповідь на діалізат, який містить велику кількість цинку.
5. Гумова пробка комерційного контролю, а також пробірки для збору та зберігання зразків можуть бути джерелами домішків цинку.
6. Харчове отруєння (не часто) виникає при користуванні для пиття гальванізованих банок і проявляється лихоманкою і шлунково-кишковим дискомфортом.
7. **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 цинку : Аналізуємий розчин = 20 : 1.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Цинк (Zn) є незамінним мікроелементом, який поступається лише залізу. Він присутній в цинкових металоферментах, наприклад карбоангідраза, лужна фосфатаза, полімераза R.N.A і D.N.A, тимідинкіназа, карбоксипептидаза і алкогольдегідрогеназа.

75-88% загального Zn цільної крові міститься в еритроцитах.

Zn важливий для загоєння ран, імунної функції, розвитку плода. Дефіцит Zn затримує зростання і сексуальний розвиток і викликає дерматит, зниження гостроти смаку, анемію, збільшення печінки і селезінки. Клінічні симптоми гострого дефіциту Zn зазвичай не виникають, поки значення не впадуть до 65 мкг/дл [10 ммоль/л]. Якщо значення залишаються нижчими 33 мкг/дл [5 ммоль/л], виникають шкірні висипи, біль в животі, діарея, втрата апетиту і відчуття смаку та нюху. Виникнення дефіциту Zn у людини часто пов'язано з низьким вмістом в раціоні тваринних білків і високим вмістом в їжі рослинних, які зв'язують Zn. До ятрогенних причин дефіциту Zn відносяться лікування анаболіками або метал-хелатними препаратами (кортикостероїди, пеніциламін) і синтетична дієтотерапія (TPN). Вміст цинку в організмі людини тісно пов'язане з функціями гормональної та ферментативної систем, які забезпечують і регулюють вуглеводний, жировий і білковий обмін, окислювально-відновні процеси, синтетичну функцію печінки. При недостатності цинку відбуваються зміни вуглеводного і азотистого обміну, порушення тканинного хімізму, спостерігається затримка росту, перезбудження нервової системи і швидка стомлюваність, гіперкератинізація, потовщення епідермісу, набряк шкіри, слизових оболонок рота і стравоходу, безпліддя.

При надлишку цинку спостерігається прогресуюча слабкість, зниження сухожильних рефлексів, кривавий пронос, парез кінцівок.

Сироваткові концентрації Zn зазнають циркадних змін і знаходяться на піку о 09.00 год і знову досягають піку о 18.00 год. Сироваткові рівні Zn знижуються в післяобідній час.

Підвищення концентрації цинку в сироватці крові викликають:

- первинна остеосаркома , коронарні захворювання серця, артеріосклероз, анемія.

Зниження концентрації цинку в сироватці крові зустрічається при таких захворюваннях і станах:

ентеропатичний акродерматит (хвороба Данболта), тифозна лихоманка, легеневий туберкульоз, метастази карциноми в печінці, спру і інші шлунково-кишкові захворювання, велика таласемія, гострий інфаркт міокарда, важке гепатоцелюлярне захворювання, гострі інфекції, гіпогонадний дварфізм, лейкемії, лімфоми, перніціозна анемія, хвороби нирок, вагітність, порушення нюху, смаку і загоєння ран, різні дерматологічні стани, алопеція, шкірні висипання, гіпоальбумінемія, гострий стрес.

Цинк має велике значення для нормального функціонування статевих органів і підтримки сексуальної здатності на належному рівні. У взаємодії з марганцем цинк виявляє помітний вплив на активність деяких статевих гормонів, вироблення сперматозоїдів, розвиток чоловічих статевих залоз і вторинних статевих ознак. Останнім часом розглядається роль цинку в запобіганні гіпертрофічних процесів в передміхуровій залозі. Цинк здатний пригнічувати активність ферменту 5 α -редуктази, внаслідок чого сповільнюється небажаний процес перетворення чоловічого статевих гормону тестостерону в "небезпечний" дегідротестостерон, накопичення якого стимулює розростання тканин передміхурової залози. Навпаки, дефіцит цинку може призводити до зниження функції яєчок, їх атрофії, зменшення вироблення сперми, тестостерону і зниження потенції у чоловіків. Підтвердженням цього є факт усунення статевих розладів на тлі додаткового призначення цинку. В організмі чоловіків цинк найбільше сконцентрований в яєчках, придатках яєчок і передміхуровій залозі. Але найбільше мікроелемент цинк міститься в спермі. Тому дефіцит цинку у молодих подружніх пар може викликати безпліддя, а у дітей шкільного віку затримує процес статевого дозрівання і знижує функціональну активність статевої залози.

Зниження концентрації цинку в СМР зустрічається при таких захворюваннях і станах: розсіяний склероз, алкоголізм, печінкові захворювання, після епілептичних припадків.

Підвищення концентрації цинку в СМР викликає субарахноїдальний крововилив.

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

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Білірубін до 150 мг/л, гемоглобін до 5 г/л та тригліцериди до 10 г/л не заважають визначенню. Цисплатина, кортикостероїди, естрогени, інтерферон, оральні контрацептиви, фенітоїн, тіазиди (тривале застосування), хлорталідон, пеніциламін, ЕДТО можуть вплинути на результати визначення.

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. M. Saito, T. Makino et al., Clinica Chimica Acta, 120, 127-135 (1982).
2. R. Homster, B. Zak, Clin. Chem. 31/8, 1310-1313 (1985).
3. Johnson and R. Ellison. Evaluation of a commercially available kit for the colorimetric determination of zinc in human seminal plasma. International Journal of Andrology, (1987), April 10 (2): 435-440.
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. Wu Alan H.B. Tietz clinical guide to laboratory tests—4th ed., Saunders, 1152, (2006).
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).
9. Камышников В. С. Карманный справочник врача по лабораторной диагностике. 8-е издание, М., МЕДпресс-информ, 2014, сс. 387, 397.
10. Долгов В.В. и др. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. М.- Тверь, Триада, 2006, с.132.
11. Студеникин В. М., Турсунхужаева С. Ш., Шелковский В. И. Цинк в нейропедиатрии и нейродиетологии // Лечащий Врач. 2012. № 1. С. 44-47.



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