



CP	9094/2009
	07.11.2014

Погоджено
Перший заступник
Голови Державної Служби України
з лікарських засобів
О.А. Алексєєва
07 листопада 2014 р.

Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості міді в сироватці або плазмі крові МІДЬ «СПЛ»

IN VITRO

P1	5 x 10 мл
P2	1 x 3 мл
P3	1 xxxxx
Стандарт	1 x 10 мл

Зберігати при 2-8°C

Набір розрахований на 50 визначень з урахуванням холостих, калібрувальних проб.

Принцип методу

Прямий колориметричний тест без депротеїнізації зразка. У кислому буфері, при рН 4,7 мідь вивільняється з білка-переносника церулоплазміну та утворює специфічний забарвлений комплекс з 3,5-DiBr-PAESA [4-(3,5-дібром-2-піріділазо)-N-етил-(3-сульфопропіл)-N-анілін]. Оптична щільність новоутвореного стабільного комплексу пропорційна вмісту міді, присутньої в зразку.

Клінічне значення

Двовалентна мідь утворює комплекси з білками. Головна функція цих комплексів - регуляція окислювально-відновних процесів. Найбільш відомі білки, які містять мідь, мають здатність зв'язувати і взаємодіяти безпосередньо з молекулярним киснем. У плазмі приблизно 95% міді пов'язане з α -2-глобуліном - церулоплазміном (оксидаза з фероксидазною активністю). Різноманітність умов дефіциту міді в людському організмі визнано. Дефіцит міді спостерігається при остеопорозі та інших кістково-суглобових захворюваннях, і, можливо, патології серцево-судинної і нервової системи. Дефіцит міді призводить до зниження антиоксидантного захисту організму. Підвищений рівень міді може бути токсичним.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показнику, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

- Реагент 1.** Буфер: Ацетатний буфер рН 4.7 \geq 1 ммоль/л.
- Реагент 2.** Комплексон: 3,5-DiBr-PAESA – 0,4 ммоль/л.
- Реагент 3.** Відновлювач: аскорбінова кислота.

E-mail: spainlab@spainlab.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)



4. Стандарт. Розчин міді – 15.73 мкмоль/л.

5. Інструкція з використання.

6. Паспорт.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: від нижньої межі 0.5-80 мкмоль/л.

Відхилення від лінійності не перевищує 3%.

Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 г/л та помножьте результат на два.

2. Чутливість не менш 0.5 мкмоль/л.

3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 3%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 годину після взяття крові. В якості антикоагулянта слід використовувати тільки гепарин. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків. Стабільність зразка: 24 години при 2-8°C, або 15 діб при -20°C.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 582 нм.

- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.

- Загальне лабораторне обладнання.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Приготування робочого реагенту **РР**:

Розчиніть одну дозу **РЗ** в одному об'ємі **Р1**. Перемішати до повного розчинення.

РР стабільний протягом 15 діб при 2-8°C. Не використовуйте після появи помутніння.

Р2 Готовий до використання. Після відкриття, стабільний 90 днів при 2-8°C, якщо уникати забруднення та тримати в щільно закритому флаконі.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 582 нм (570-590)

кювета з товщиною оптичного шару 1 см

температура 37°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

	Холостий зразок	Стандартний зразок	Дослідний зразок
РР, мл	1.0	1.0	1.0
Стандарт, мкл	--	50	--
Дистильована вода, мкл	50	--	--

4. Перемішати, виміряти оптичну щільність (E_1) дослідного зразка та стандарту проти холостого зразка

5. Додати

Р2, мкл	50	50	50
---------	----	----	----

Прим. Об'єми реагентів, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.



6. Перемішати, інкубувати протягом 4 - 5 хв. при температурі 37° С.
7. Виміряти оптичну щільність (E_2) дослідного зразка та стандарту проти холостого зразка. Забарвлення стабільне протягом 1 години при кімнатній температурі.

Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}2} - E_{\text{дос}1}}{E_{\text{см}2} - E_{\text{см}1}} \times C_{\text{см}}$$

де: $C_{\text{дос}}$ - концентрація міді в дослідному зразку, мг/л.

$E_{\text{дос}}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{см}}$ - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.

$C_{\text{см}}$ - вміст міді в стандарті, 15.73 мкмоль/л.

Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче.

Чоловіки 11.0 – 22.0 мкмоль/л = 0.7 – 1.40 мг/л

Жінки 12.6 – 24.4 мкмоль/л = 0.8 – 1.55 мг/л

Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Перехід в додаткові одиниці: мг/л x 15.73 = мкмоль/л.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «SPINTROL N, P» (Іспанія), контрольні сироватки «Lyoporm HUM N, P» (Чехія), «Cormay Serum HN, HP» (Польща).

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

Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°С, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (1 рік).

Ознаки погіршення реagentів

- Присутність часток і помутніння.

Примітки:

1. Мідь Стандарт. Працюйте обережно з цим реагентом, оскільки за своєю природою він легко може забруднитися.
2. Рекомендовано використовувати одноразові витратні матеріали. Скляний посуд повинен ретельно митися у водному розчині 1 н соляної кислоти, а потім ретельно бути промитий дистильованою водою (до 10 разів).
3. Використовуйте одноразові накінецьники для дозатора.
4. «СпайЛаб» має інструкції для напівавтоматичних та автоматичних аналізаторів. Інструкції для багатьох з них надаються за запитом.



МІДЬ «СПЛ»

Колориметричний. З 3,5-DiBr-PAESA

СР	9094/2009
	07.11.2014

ТОВ «СпайнЛаб»
61050, м. Харків,
вул. Франківська, 14
тел. (057) 768-07-14

Паспорт
Набір реагентів для визначення кількості
міди в сироватці або плазмі крові
МІДЬ «СПЛ»

IN VITRO

Серія **44-304-1**

Дата виготовлення **08.04.2013**

Термін придатності **08.04.2014** Зберігати при 2-8°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-36035842-001:2009	Результати контролю
Фізико-хімічні показники			
1. Зовнішній вигляд реагентів			
1.1	P1. Буфер: Ацетатний буфер рН 4.7 \geq 1 ммоль/л.	рідкий прозорий світло-жовтий розчин	відповідає
1.2	P2. Комплексон: 3,5-DiBr-PAESA – 0.4 ммоль/л.	червоний рідкий розчин	відповідає
1.3	P3. Відновлювач: аскорбінова кислота.	поршок	відповідає
1.4	Стандарт. Розчин міді – 15.73 мкмоль/л.	рідкий прозорий розчин	відповідає
2. рН реагентів			
2.1	P1	4.2 \pm 0.2	відповідає
3. Показники правильності визначення			
3.1	Чутливість не менш, мкмоль/л	0.5	відповідає
3.2	Лінійність в діапазоні концентрацій, мкмоль/л	0.5-80 \pm 3 %	відповідає
3.3	Коефіцієнт варіації	\pm 3 %	відповідає
4. Комплектація			
4.1	P1	5 x 10 мл	відповідає
4.2	P2	1 x 3 мл	відповідає
4.3	P3	1 xxxxx	відповідає
4.4	Стандарт	1 x 10 мл	відповідає

Набір розрахований на 50 визначень з урахуванням холостих, калібрувальних проб.
Термін зберігання – 1 рік з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-36035842-001:2009.

E-mail: spainlab@spainlab.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)