



## Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості міді в сироватці або плазмі крові Мідь СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8 °С

Тільки для професійного використання.

### Принцип методу

Прямий колориметричний тест без депротейнізації 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-піриділазо)-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  $\alpha$ -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

1. **Реагент 1.** Буфер: Ацетатний буфер рН 4.7  $\geq 1$  mmol/l (ммоль/л).
2. **Реагент 2.** Комплексон: 3,5-DiBr-PAESA – 0.4 mmol/l (ммоль/л).
3. **Реагент 3.** Відновлювач: аскорбінова кислота.
4. **Стандарт.** Розчин міді. Точна концентрація вказана в сертифікаті якості.
5. Ложка.
6. Інструкція з використання.
7. Сертифікат якості.

### Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 0.5 – 80  $\mu$ mol/l (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 g/l (г/л) та помножьте результат на два.
2. Чутливість не менш 0.5  $\mu$ mol/l (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 h (год) після взяття крові. В якості антикоагулянта слід використовувати тільки гепарин. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків. Стабільність зразка: 24 h (год) при 2-8 °С, або 15 d (доб) при -20 °С.

### Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 582 nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 cm (см).
- Загальне лабораторне обладнання.

### Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

**Робочий реагент РР:** додати одну дозу (ложкою) **РЗ** в один флакон **Р1**, акуратно.

**РР** стабільний протягом 15 d (доб) при 2-8 °С, зберігати щільно закритим. Не використовуйте, якщо з'являється каламутність.

**Р2** Готовий до використання.

### Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 582 (570-590) nm (нм)

кювета з товщиною оптичного шару 1 cm (см)

температура 37 °С

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, ml (мл)	1.0	1.0	1.0
Дистильована вода, μl (мкл)	50	-	-
Стандарт, μl (мкл)	-	50	-
Зразок, μl (мкл)	-	-	50

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

5. Додати

Р2, μl (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 min (мхв) при температурі 37 °С.

7. Виміряти оптичну щільність ( $E_2$ ) дослідного зразка та стандарту проти холостого зразка.

Забарвлення стабільне протягом 1 h (год) при кімнатній температурі.

### Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{(E_2 - E_1)_{\text{досл}} - (E_2 - E_1)_{\text{хол}}}{(E_2 - E_1)_{\text{ст}} - (E_2 - E_1)_{\text{хол}}} \times C_{\text{ст}}$$

де:  $C_{\text{дос}}$  - концентрація міді в дослідному зразку, μmol/l (мкмоль/л).

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

$E_{\text{хол}}$  - оптична щільність холостого зразка, одиниць оптичної щільності.

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

$C_{\text{ст}}$  - вміст міді в стандарті.

### Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Чоловіки 11.0 – 22.0 μmol/l (мкмоль/л) = 0.7 – 1.40 mg/l (мг/л)

Жінки 12.6 – 24.4 μmol/l (мкмоль/л) = 0.8 – 1.55 mg/l (мг/л)

Перехід в додаткові одиниці: mg/l (мг/л) x 15.73 = μmol/l (мкмоль/л).

### Відтворюваність

Значення, μg/dl (мкг/дл)	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
	50,1	196,1	49,7	195,7
SD	1,1	1,43	1,20	2,20
CV, %	2,23	0,76	2,30	1,20

### Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 80 зразках.

Результати:

Коефіцієнт кореляції (r)<sup>2</sup>: 1,00

Рівняння регресії:  $y=1,03x + 0,25$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

### Специфічність

Не впливає білірубін до 15 mg/dl (мг/дл), гемоглобін – до 0,5 mg/dl (мг/дл), тригліцериди – до 1000 mg/dl (мг/дл).

### Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи «СпЛ Контроль Норма», «СпЛ Контроль Патологія» (ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) або контрольний матеріал іншого виробника. Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

### Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Мідь Стандарт. Працюйте обережно з цим реагентом, оскільки за своєю природою він легко може забруднитися.
3. 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).
4. Використовуйте одноразові накінецьники для дозатора.

### Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8 °С. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

### Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

### Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25 °С. Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37 °С не більше 72 h (год).

### Ознаки погіршення реагентів


- Присутність часток і помутніння.

### Гарантії виробника












1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

### Комплектація

	<b>REF</b> 3.016
Вміст	50 визн.
P1	5 x 10 ml (мл)
P2	1 x 3 ml (мл)
P3	1 фл.
Стандарт	1 x 10 ml (мл)
Ложка	1 шт.

 ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.  
Тел./факс: (057) 752-32-31, [www.granum.ua](http://www.granum.ua)

### Символи на продукції

	Виробник		Виготовлено: Дата виробництва		Придатно до: Термін придатності		Серія: Номер серії		
	Виріб медичний для діагностики in vitro		Консультуйтеся з інструкцією із використання						
	Берегти від сонячного світла		Знак відповідності Технічним регламентам		Температурне обмеження		Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів		Каталожний номер