

КОД 12526 1 x 50 мл
Хранить при 2-8° С
Реагенты для измерения концентрации цинка. Использовать только для работы «in vitro» в клинических лабораториях



ПРИНЦИП МЕТОДА

Цинк образца вступает в реакцию с 5-Br-PAPS в щелочной среде, в результате чего образуется окрашенный комплекс, концентрация которого может быть измерена спектрофотометрически¹.

СОСТАВ

A1. Реагент: 2x15 мл. Карбонат натрия 240 ммоль/л, pH 10,0.
A2. Реагент: 2x5 мл. Цитрат натрия 170 ммоль/л, Салицилальдоксим 24 ммоль/л, консерванты.
B. Реагент: 1x10 мл. Карбонат натрия 50 ммоль/л, 5-Br-PAPS 0,25 ммоль/л
S. Стандарт цинка. 1x3 мл. Цинк 2000 мкг/дл, эквивалентен 10000 мкг/дл (1529 мкмоль/л) цинка в образце, учитывая фактор разведения (1:5).
Раздражитель (Xi); R43: Может вызывать раздражения при контакте с кожей. S36/37: Использовать надлежащую защитную экипировку и перчатки. S45: В случае плохого самочувствия необходимо немедленно обратиться к врачу (если возможно, показать этикетку).

ХРАНЕНИЕ

Хранить при 2 - 8°С.
Реагенты стабильны в течение всего срока годности, указанного на упаковке при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования. Показатели ухудшения свойств:
- **Реагент:** Присутствие взвеси, помутнение, абсорбция бланка свыше 0,300 при 560 нм. (кювета 1 см).
- **Стандарт:** Присутствие взвеси, мутность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ

Биохимический калибратор (Коды 18011, 18044)

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА (Примечание 1)

Реагент А: Поместить содержимое флакона с реагентом А2 во флакон с реагентом А1. Аккуратно перемешать. Другие объемы реагентов могут быть приготовлены в пропорции: 3 мл. реагента А1 + 1 мл. реагента А2. Рабочий реагент стабилен 2 месяца при температуре 2-8 °С.
Реагент В и стандарт: готовы к использованию.

Реагенты в открытых бутылочках стабильны 2 месяца при хранении в холодильнике анализатора.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с кюветой и с фильтром 560 нм.

ОБРАЗЦЫ

Семенная плазма: дождаться разжижения семенной жидкости инкубируя при 37 °С в течение 30 минут. Центрифугировать, отделить сперматозоиды и собрать семенную плазму².

Сыворотка или гепаринизированная плазма крови, собранные с использованием стандартных процедур.
Цинк в названных биологических материалах стабилен 7 дней при 2-8° С.

КАЛИБРОВКА

Рекомендуется использовать стандарт Цинка (S) для семенной плазмы и Биохимические Калибраторы для сыворотки или гепаринизированной плазмы.

ПРОЦЕДУРА

Разведение образца (Примечание 1)

Стандарт, сыворотка и гепаринизированная плазма не требуют подготовки.

- Добавить в пробирку

Семенная плазма	200 мкл
Дистиллированная вода	800 мкл

- Аккуратно перемешать. Разведенный образец стабилен 8 часов при температуре 15-25 °С, 24 часа при 2-8 °С

Автоматическая процедура (Примечание 2)

ОБЩИЕ	Название теста Способ измерения Тип пробы Единицы	A-25	A-15
		ЦИНК Диффер.бир. СЕМ/СЫВ мкг/дл	ЦИНК Диффер.бир. СЕМ/СЫВ мкг/дл
	Тип реакции	Возраст.	Возраст.
	Десятичные знаки	0/1	0/1
	Количество повторов	1	1
	Название теста в отчете	-	-

ПРОЦЕДУРА	Считывание Объемы	Монохром.	Монохром.
		3/15	3/15
Фильтры	Проба	240	240
	Реагент 1	60	60
	Реагент 2	1,2	1,2
	Промывка	-	-
	Фактор предразведения	2	2
	Фактор постразведения	560	560
	Основной	-	-
	Референсный	105 с	120 с
	Считывание 1	420 с	432 с
	Считывание 2	120 с	144 с
КАЛИБРОВКА	Тип калибратора	Спец./мульти	Спец./мульти
	Повтор калибратора	3	3
	Повтор бланка	3	3
	Калибровочная кривая	-	-
ОПЦИИ	Предел абсорбции бланка	0,3	0,3
	Предел бланка кинетики	-	-
	Предел линейности	30000/1250	30000/1250

- Аккуратно перемешать и инкубировать в течение 5 минут при комнатной температуре.
- Измерить поглощение (А) бланка образца при 560 нм против дистиллированной воды.
- Измерить поглощение (А) образца и калибратора против бланка реагента.
- Рассчитать концентрацию цинка, используя следующую формулу:

$\frac{A_{\text{Образца}} - A_{\text{Бланка_Образца}}}{A_{\text{Калибр}} - A_{\text{Бланка_Калибр}}}$	Семенная плазма x 10000 мкг/дл Zn x 1529 мкмоль/дл Zn	Сыворотка/Плазма x С калибр. мкг/дл Zn x С калибр. мкмоль/дл Zn
---	---	---

Ручная процедура (Примечания 1,3)

- Добавить в пробирки:

	Бланк реаг.	Бланк обр.	Калибр.	Проба
Дист. вода (СЕМ/СЫВ)	12/60 мкл	-	-	-
Цинк стандарт (S)	-	-	12 мкл	-
Биохим. калибратор	-	60 мкл	60 мкл	-
Семенная плазма	-	-	-	12 мкл
Сыворотка/плазма	-	60 мкл	-	60 мкл
Реагент А	960 мкл	1200 мкл	960 мкл	960 мкл
Реагент В	240 мкл	-	240 мкл	240 мкл

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Семенная плазма^{3,4}: 5000 – 50000 мкг/дл (764-7644 мкмоль/л)
Сыворотка крови⁵: 80-120 мкг/дл (12 – 18 мкмоль/л)
Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать собственные диапазоны нормальных значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется использовать: контроль фертильности (код 18053) и Биохимические контрольные сыворотки I уровня (18005, 18009, 18042) и II уровня (18007, 18010, 18043).
Каждая лаборатория должна устанавливать свою собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для корректировки своих действий в случае, если контроль не укладывается в приемлемый диапазон.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

При использовании анализаторов А-25 и А-15 были получены схожие результаты. Детали сравнения предоставляются по запросу.
- Предел определения: 176 мкг/дл = 27 мкмоль/л (семенная плазма); 7,7 мкг/дл = 1,2 мкмоль/л (сыворотка).
- Предел линейности: 30000 мкг/дл = 4546 мкмоль/л (семенная плазма); 1250 мкг/дл = 191 мкмоль/л (сыворотка). Для значений, превышающих данные развести образец вдвое и повторить измерение.
- Сходимость (внутри серии):

Семенная плазма	CV	n	Сыворотка	CV	n
6990 мкг/дл=1070 мкмоль/л	1,6%	20	69,8 мкг/дл=10,7 мкмоль/л	4,1%	20
13600 мкг/дл=2080 мкмоль/л	1,3%	20	95,7 мкг/дл=14,6 мкмоль/л	2,9%	20

– Воспроизводимость (между сериями):

Семенная плазма	CV	n	Сыворотка	CV	n
6990 мкг/дл=1070 мкмоль/л	2,1%	25	69,8 мкг/дл=10,7 мкмоль/л	4,8%	20
13600 мкг/дл=2080 мкмоль/л	2,0%	25	95,7 мкг/дл=14,6 мкмоль/л	3,6%	20

– Достоверность: результаты, полученные с применением данных реагентов, не показывают систематических различий при сравнении с эталонными реагентами. Подробности проведенных экспериментов сравнения предоставляются по запросу.

– Влияние: Билирубин (20 мг/дл) не влияют на результат. Липемия (триглицериды 10 г/л) и гемолиз (гемоглобин 10 г/л) могут оказывать влияние на результат. Другие вещества и лекарственные препараты могут влиять на исследование⁶.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Цинк является переходным металлом, который незаменим в процессе питания человека. Наиболее доступными источниками цинка являются красное мясо и рыба. Существует более 200 цинковых металлоферментов, которые присутствуют во всех шести категориях ферментативных систем.

Уровни цинка в семенной плазме характеризуют показатель фертильности. Концентрации цинка определяются для оценки секретирующей функции предстательной железы. Низкие значения указывают на аномальные нарушения секреторной функции, возможно в результате воспалений хронической или острой природы⁴.

Острый недостаток цинка в крови проявляется в задержке роста и ведет к снижению сопротивляемости организма инфекционным заболеваниям. Менее острая нехватка цинка в крови может характеризоваться нарушением иммунной функции, диареей, ИСС, алопецией, нарушениями зрения и другими неблагоприятными клиническими проявлениями. Потребление в пищу избыточного количества цинка вызывает повышение его уровней в крови и ведет к появлению абдоминальных болей, диареи, тошноты и рвоты. Гепаринизированная плазма является биологическим материалом, рекомендуемым для проведения

исследований, так как ее использование позволяет избежать загрязнений цинком из эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов во время образования сгустка и центрифугировная⁵.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При использовании стеклянной посуды возможны загрязнения пробы цинком. Необходимо использовать для тестирования одноразовую посуду из пластика или стеклянную, обработанную кислотой.
2. Данный реагент может использоваться на различных биохимических анализаторах. Инструкции по адаптации доступны по запросу.
3. Бланк реагента необходимо считать в случае использования сыворотки и гепаринизированной плазмы.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Makino T, Siato M, Horiguchi D, Kina KA, Highly sensitive colorimetric determination of serum zinc using water-soluble piridylazo dye. Clin. Chim. Acta 1982; 120: 127-135
2. Poirot C, Cherruau B. Infertilidad masculina. Aspectos clinicos e investigaciones biologicas. Acta Bioquim. Clin. Latinoam. 2005; 39: 225-241
3. Chia SE, Ong CN, Chua LH, Ho LM, Tay SK. Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. Journal of andrology 2000; 21:53-57.
4. WHO laboratory manual for examination and processing of human semen. WHO Press, 5-th edition, 2010
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Biology, 4nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 2005
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1995