



Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості кальцію в сироватці, плазмі крові або сечі КАЛЬЦІЙ -А СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Набір Набір розрахований на 50 визначень з урахуванням холостих, калібрувальних проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

Кальцій з арсеназо III при нейтральному рН утворює комплекс синього кольору. Інтенсивність забарвлення комплексу пропорційна концентрації кальцію у зразку.

Клінічне значення

Кальцій є найбільш поширеним і одним з найбільш важливим мінералів в організмі людини. Приблизно 99% кальцію тіла знаходиться в кістках. Серед причин підвищення кальцію є ракові захворювання, велике споживання вітаміну D, затримка виділення через нирки, остеопороз, саркоїдоз, тиреотоксикоз, гіперпаратирозидизм.

Низький рівень кальцію спостерігається при гіпаратирозидизмі, псевдопаратирозидизмі, при нестачі вітаміну D, недоїданні та порушення роботи кишечника, зниженні рівня альбуміну.

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

Склад набору

1. **Реагент 1.** Імідазольний буфер рН 6.5 - 100 ммоль/л, Arsenazo III - 120 ммоль/л.
2. **Стандарт.** Водний розчин кальцію - 2.5 ммоль/л.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 0.01 - 6.5 ммоль/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 помножте результат на два.
2. Чутливість не менш 0.01 ммоль/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. Антикоагулянти крові з оксалатом або ЕДТА не є прийнятними, так як ці хімічні речовини будуть сильно зв'язувати кальцій. Уникайте використання мутних, ліпідних (з концентрацією тригліцеридів вище 1,25 г/л) та гемолітичних зразків.

Сеча. Зберіть протягом 24 годин зразок сечі в контейнер з 10 мл 50% азотної кислоти. Запишіть об'єм. Розвести зразок 1/2 дистильованою водою. Змішайте. Результат необхідно помножити на 2 (коефіцієнт розведення).

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 650 нм.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Загальне лабораторне обладнання.

Прим: Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Всі реагенти готові до використання.

Проведення аналізу

- Умови вимірювання:
 - довжина хвилі 650 нм
 - кювета з товщиною оптичного шару 1 см
 - температура 37 / 15-25°C
- Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
- Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

	Холостий зразок	Стандартний зразок	Дослідний зразок
Р1, мл	1.0	1.0	1.0
Стандарт, мкл	-	10	-
Зразок, мкл	-	-	10

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

- Перемішати, інкубувати протягом 2 хв. при температурі 37 / 15-25° С.
- Виміряти оптичну щільність (Е) дослідного зразка та стандарту проти холостого зразка. Забарвлення стабільне протягом 1 години при кімнатній температурі.

Розрахунок результатів

Сироватка або плазма

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

Сеча

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}} \times V$$

- де: $C_{\text{дос}}$ - концентрація кальцію в дослідному зразку, ммоль/л.
 $E_{\text{дос}}$ - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.
 $E_{\text{ст}}$ - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.
 $C_{\text{ст}}$ - вміст кальцію в стандарті, 2.5 ммоль/л.
 V - об'єм сечі за добу, л

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.

	Сироватка, плазма	Добова сеча
Дорослі	2.1 - 2.6 ммоль/л = 85 - 105 мг/л	1.25 – 7.5 ммоль/доб. = 50 - 300 мг/доб.
Діти	2.5 - 3 ммоль/л = 100 - 120 мг/л	2 - 4 ммоль/доб. = 80 - 160 мг/доб.
Новонароджені	2- 3.25 ммоль/л = 80 - 130 мг/л	

Перехід в додаткові одиниці: мг/л x 0.025 = ммоль/л.

Відтворюваність:

Значення, мг/дл	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
	8,35	14,28	8,58	14,57
SD	0,08	0,08	0,19	0,34
CV, %	0,95	0,59	2,24	2,31

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів СпайнЛаб (у), при порівнянні з іншими комерційними реагентами (х) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати:

Коефіцієнт кореляції (r)²: 0,9506

Рівняння регресії: $y=0,8944x + 1,3421$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Тригліцериди до 1,25 г/л не впливають на результат.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СПЛ Контроль НОРМА», («Лабораторія Гранум», Україна); «SPINTROL N, P» (Іспанія), «ERBA NORM, PATN» (Чехія), «Cormay Segum HN, HP» (Польща), «ФИЛО-НОРМ, ФИЛО-ПАТ» (Україна). 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°C, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобової температурі 37°C не більше 72 годин.

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.

- Бланк поглинання (Е) при 650 нм > 0.50.

Примітки

1. Кальцій 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 1/1 HNO₃, а потім ретельно бути промитий дистильованою водою (до 10 разів).
3. Більшість миючих засобів та водних пом'якшуючих засобів, що використовуються в лабораторії містять реагенти, які заважають визначенню кальцію. Неякісна обробка посуду призведе до неправильних результатів.
4. Калібрування з водним стандартом може призвести до виникнення систематичної помилки в автоматизованих системах. У таких випадках, рекомендується використовувати Калібратор-сироватку.
5. Використовуйте одноразові накінецьники для дозатора.