

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2010 г. № _____ -Пр/010



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для количественного определения содержания кальция в сыворотке или плазме крови и моче человека о-крезолфталейновым методом
«КАЛЬЦИЙ - UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для количественного определения содержания кальция в сыворотке или плазме крови и моче человека колориметрическим методом в клинико-диагностических лабораториях и научно-исследовательской практике.

1.2. Набор выпускается в четырех видах фасовки и рассчитан на проведение 100, 200, 400 или 500 определений при расходе 1,0 мл рабочего реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

2.1.1. Ионы кальция в образце образуют цветной комплекс в реакции с о-крезолфталейном в щелочной среде. Интенсивность образовавшейся окраски пропорциональна концентрации кальция в образце и измеряется при 570 (540-590) нм.

2.2. Клиническая диагностика

2.2.1. Кальций – это самый распространенный и один из самых важных минералов в организме человека. Приблизительно 99% кальция находится в костях. Понижение уровня альбумина вызывает понижение уровня кальция в сыворотке крови. Гиперкальцемию вызывают рак, избыточное употребление витамина D, повышенная почечная ретенция, остеопороз, саркоидоз, тиротоксикоз, гиперпаратиреозидизм. Низкий уровень кальция обнаруживается при гиперпаратиреозидизме, псевдогиперпаратиреозидизме, недостатке витамина D, недостаточном питании и кишечной мальабсорбции.

2.2.2. Клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, он должен объединять как клинические, так и лабораторные данные.

2.3. Состав набора

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 P1 (буфер)	Этаноламин	500 ммоль/л
Реагент 2 P2 (хромоген)	О-крезолфталейн	0,62 ммоль/л
	8-гидроксихинолин	69 ммоль/л
Калибратор	Водный раствор кальция хлорида	2,5 ммоль/л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения содержания кальция в диапазоне от 0,36 ммоль/л до 7,30 ммоль/л, отклонение от линейности не превышает 3%. Чувствительность – не более 0,03 ммоль/л, коэффициент вариации результатов определений – не более 3 %.

3.2. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

3.3. Нормальные величины содержания кальция составляют:

Сыворотка, плазма	Новорожденные	2,0-3,25 ммоль/л	8-13 мг/100мл
	Дети	2,5-3,0 ммоль/л	10-12 мг/100мл
	Взрослые	2,1-2,6 ммоль/л	8,5-10,5 мг/100мл
Моча	Дети	2,0-4,0 ммоль/24ч	80-160 мг/24ч
	Взрослые	1,25-7,5 ммоль/24ч	50-300 мг/24ч

3.4. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1.

4.2. Реагенты 1 и 2 содержат щелочи. Следует избегать попадания реагентов на кожу и слизистые. В случае попадания их на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть пораженные участки большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

5.1. Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 570 нм (550-590), кювета с длиной оптического пути 10 мм*;

5.2. Дозаторы для отбора жидкостей объемом 10 и 1000 мкл.***

5.3. Термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 0,5$ °C.

5.4. Пробирки пластиковые или стеклянные объемом не менее 2 мл**.

5.5. Физиологический раствор (9 г/л NaCl).

*При использовании биохимического анализатора с ненормированной длиной оптического пути требуется калибровка по сывороточным калибраторам, аттестованным по значению содержания кальция.

**Рекомендуется использовать одноразовые пластиковые расходные материалы. При использовании стеклянной посуды она должна быть промыта водным раствором 1:1 HNO₃ и затем тщательно ополоснута дистиллированной водой и высушена перед использованием.

***Большинство моющих средств и смягчающих воду реагентов, используемых в лаборатории, содержат хелатные агенты. Недостаточное ополаскивание посуды приводит к неправильным результатам измерения. Используйте чистые одноразовые наконечники при дозировании.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Негемолизированная сыворотка или гепаринизированная плазма крови. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови как можно быстрее после забора крови. Не использовать антикоагулянты с оксалатом или ЭДТА, так как эти соединения сильно связывают кальций в хелатный комплекс. Образцы стабильны 7 дней при 2 – 8 °C.

6.2. Образцы мочи собрать в течение 24 часов в контейнер, свободный от кальция. Контейнер для сбора мочи должен содержать 10 мл разбавленной азотной кислоты (50% об/об.). Измерить и записать объем. Пробу развести 1:2 дистиллированной водой, перемешать, провести определение кальция, полученный результат умножить на 2 (коэффициент разведения). Концентрация кальция остается стабильной в образце в течение 10 дней при 2 – 8 °C.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Рабочий реагент готовится смешиванием 1 объема буфера (реагент 1) с 1 объемом раствора о-крезолфталейна (реагент 2). Готовить только необходимое количество рабочего реагента для использования в течение рабочего дня. Рабочий реагент стабилен 24 часа при 15-25 °С, 5 дней при 2 – 8 °С.

7.2. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице:

Объем, мкл	Холостая проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Рабочий реагент	1000	1000	1000
Калибратор	-	10	-
Анализируемый образец	-	-	10

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:100, мочи к рабочему реагенту – 1:100).

7.3 Пробы перемешать и инкубировать в течение 5 минут при 15 – 25 °С или при 37 °С.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Измерить оптическую плотность опытной пробы ($A_{оп}$) и калибратора ($A_{кал}$) при длине волны 570 (550-590) нм против холостой пробы. Окраска стабильна в течение 40 минут с момента смешивания.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1 Содержание кальция в сыворотке или плазма крови человека в (ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{A_{оп}}{A_{кал}} \times C_{кал}$$

где: - C – содержание кальция, ммоль/л;
- $A_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы против холостой пробы, ед.опт.пл.;
- $A_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы против холостой пробы, ед.опт.пл.;
- $C_{кал}$ – содержание кальция в калибраторе, равное 2,5 ммоль/л

9.2. Содержание кальция в моче в (ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{A_{оп}}{A_{кал}} \times C_{кал} \times 2 \times V_{24ч}$$

где: C – содержание кальция, ммоль/л;
- $A_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы против холостой пробы, ед.опт.пл.;
- $A_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы против холостой пробы, ед.опт.пл.;
- $C_{кал}$ – содержание кальция в калибраторе, равное 2,5 ммоль/л;
- 2 – степень разведения;
- $V_{24ч}$ – объем мочи, собранный за 24 часа.

Коэффициент пересчета: мг/дл $\times 0,25$ = ммоль/л

9.3. Если результаты измерений превышают предел линейности, анализируемый образец следует развести физиологическим раствором (9 г/л) в 2 раза, провести повторные измерения и полученный результат определения умножить на 2.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «КАЛЬЦИЙ-UTS» должен храниться в темном месте, при температуре +2-8 °С в упаковке предприятия-изготовителя и соблюдением мер против контаминации в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора – 18 месяцев.

10.3. Калибратор после вскрытия флакона может храниться при температуре +2-8 °С в плотно закрытом флаконе в темном месте в течение 30 суток.

10.4. При загрязнении реагентов, помутнении или при оптической плотности холостой пробы при 570 нм более 0,1 ед. опт.пл. (при использовании кювет с длиной оптического пути 10 мм) реагент не годен к употреблению.

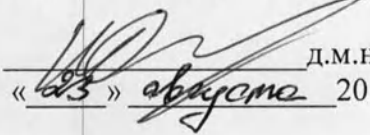
10.5. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Руководитель отдела производства реагентов
ООО «ЭЙЛИТОН»

 Нечаев В.Н.

«Согласовано»

зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГОУ ДПО
«РМАПО Росздравнадзора»

 д.м.н., профессор Долгов В.В.
« 23 » августа 2010 г

По вопросам, касающимся качества набора «КАЛЬЦИЙ-UTS» следует обращаться в ЗАО «А/О Юнимед» по адресу: 129301, Москва, ул. Касаткина, 3а; Тел. (495) 734-91-31, 8-800-333-91-31.

Факс: (495) 564-86-41.

E-mail: office@unimeda.ru

<http://www.unimeda.ru>

