

4

«УТВЕРЖДАЮ»

**Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОИ-ДС»**

Смирнов А.В.

«16» февраля 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**применению Набора реагентов для количественного определения содержания кальция
о-крезолфталейновым методом в сыворотке крови и моче
(КАЛЬЦИЙ ОКФ ДДС)**

РУ № ФСР 2007/01437

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного определения содержания кальция в сыворотке крови человека о-крезолфталейновым методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор реагентов (КАЛЬЦИЙ ОКФ ДДС) должен использоваться квалифицированным персоналом в области клинической лабораторной диагностики.

Количество определений зависит от объема фасовки и используемого биохимического анализа.

МЕТОД

Фотометрический метод с о-крезолфталейном (ОКФ).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ионы кальция в щелочной среде взаимодействуют с о-крезолфталейновым комплексом с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации кальция в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 570(550–590) нм. Наличие 8-оксихинолина в реакционной смеси исключает влияние ионов магния на интенсивность окра-

СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1: буферный раствор (рН 10,7), содержащий этаноламин 1,0 моль/л – 4 флакона (по 20 флаконов (по 80 мл), 2 флакона (по 68 мл), 6 флаконов (по 68 мл), 2 флакона (по 64 мл), 6 флаконов (по 64 мл), 2 флакона (по 65 мл), 6 флаконов (по 65 мл), 4 флакона (по 65 мл), 4 флакона (по 38 флаконов (по 24 мл), 2 флакона (по 62 мл), 5 флаконов (по 62 мл), 6 флаконов (по 20 мл), 10 флаконов (по 40 мл), 2 флакона (по 40 мл), 4 флакона (по 40 мл), 4 флакона (по 10 мл), 4 флакона (по 4 флакона (по 24 мл), 4 флакона (по 60 мл), 1 канистра (10000 мл).

Реагент 2: раствор, содержащий о-крезолфталейновый комплекс, 0,3 ммоль/л; 8-оксихинолин, 35 ммоль/л – 1 флакон (20 мл), 1 флакон (100 мл), 2 флакона (по 17 мл), 6 флаконов (по 2 флакона (по 20 мл), 6 флаконов (по 20 мл), 4 флакона (по 20 мл), 2 флакона (по 22 мл), 3

она (по 13 мл), 2 флакона (по 18 мл), 5 флаконов (по 18 мл), 6 флаконов (по 5,0 мл), 2 флакона (по 5,0 мл), 1 флакон (10 мл), 1 флакон (90 мл), 4 флакона (по 8,0 мл), 1 флакон (60 мл), 1 канистра (500 мл).

Калибратор: калибровочный раствор хлористого кальция, 2,5 ммоль/л, в растворе азида натрия, 5% – 1 флакон (3,0 мл), 2 флакона (по 3,0 мл), 1 флакон (500 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Линейность в диапазоне от 0,5 до 5,0 ммоль/л.
- Отклонение от линейности не превышает 3%.
- Чувствительность – не более 0,25 ммоль/л.
- Коэффициент вариации – не более 3%.

При содержании кальция в сыворотке крови или моче выше 5,0 ммоль/л анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить анализ и полученный результат умножить на коэффициент разведения.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для калибровки фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U, DiaSys, Германия.

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контроля сывороток TruLab N и P (ОКФ), DiaSys, Германия; контрольной мочи TruLab Urine Level 1 и 2, DiaSys, Германия.

	Кат. №	Фасовка
TruCal U	5 9100 60 10 060	1×3 мл
TruLab N	5 9000 60 10 060	1×5 мл
TruLab P	5 9050 60 10 060	1×5 мл
TruLab Urine Level 1	5 917 099 10 061	1×5 мл
TruLab Urine Level 2	5 918 099 10 061	1×5 мл

Возможно использование других контрольных сывороток, другой контрольной мочи, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемому.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

- В сыворотке крови человека: 2,15–2,6 ммоль/л.
- В моче человека: 2,5–7,5 ммоль/сутки.

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

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови и моча человека. Сыворотку крови следует отделить от осевших элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

К суточной моче следует добавить 10 мл концентрированной соляной кислоты и подогреть для растворения оксалата кальция.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 1 (Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 № 4н).

Реагенты 1 и 2 едкие. Не допускать их попадания в глаза и на кожу, так как они вызывают раздражения. В случае попадания в глаза, немедленно промыть большим количеством воды и обратиться к врачу.

В Калибраторе содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности – соблюдение "Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделов, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения" (Москва, 1981 г.).

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

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Реагенты 1, 2 и Калибратор готовы к использованию.

Для приготовления Рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Плотно закрыть флаконы с Реагентами 1 и 2 после отбора аликвот. Оставить свежеприготовленный рабочий реагент на 20-30 мин при комнатной температуре (18-25°C) для уравнивания компонентов смеси.

Тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 сразу после каждого использования.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2-25°C не более 3 дней.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице.

Реагентная схема — запуск реакции образцом.

Таблица 1.

Вещество, мкл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Порция крови или моча	10	—	—
Дистиллированная вода	—	—	10
Калибратор	—	10	—
Рабочий реагент	1000	1000	1000

Смесь тщательно перемешать и выдержать 5 мин при температуре 37°C или 10 мин при комнатной температуре (18–25°C). Измерить оптическую плотность (А) опытной пробы и калибровочной пробы против контрольной (холостой) пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 570 (550-590) нм.

Стабильность растворов стабильна в течение 30 минут.

$$\Delta A = A_{\text{оп/кал}} - A_{\text{контр}}$$

Реагентная схема — запуск реакции субстратом (в случае интенсивно окрашенных образцов образцов с высоким содержанием липидов).

Измерить, мкл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка крови или моча	10	–	–
Вода дистиллированная	–	–	10
Калибратор	–	10	–
Концентрат 1	1000	1000	1000

Тщательно перемешать и выдержать 5 мин при температуре 37°C или 10 мин при комнатной температуре (18–25°C). Затем измерить оптическую плотность (A1) опытной пробы и калибровочной пробы против контрольной (холостой) пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 570 (550–590) нм. Добавить:

Концентрат 2	250	250	250
--------------	-----	-----	-----

Пробы тщательно перемешать и выдержать 5 мин при температуре 37°C или 10 мин при комнатной температуре (18–25°C). Измерить оптическую плотность (A2) опытной пробы и калибровочной пробы против контрольной (холостой) пробы в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 570 (550–590) нм.

Стабильность растворов в течение 30 минут.

$$\Delta A = (A2 - A1) \text{ оп/квл}$$

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 крови или мочи к рабочему реагенту составляет 1:100).

РАСЧЕТЫ

Определение кальция в сыворотке крови (в ммоль/л) определить по формуле:

$$C = \frac{A_{\text{оп}}}{A_{\text{кал}}} \times 2,5$$

- C – концентрация кальция в опытной пробе, ммоль/л;
 A_{оп.} – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;
 A_{кал.} – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;
 2,5 – содержание кальция в калибраторе, ммоль/л.

Определение кальция в моче (в ммоль/сутки) определить по формуле:

$$C = \frac{A_{\text{оп}} \times V}{A_{\text{кал}}} \times 2,5$$

- C – концентрация кальция в опытной пробе, ммоль/сутки;
 A_{оп.} – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;
 A_{кал.} – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;
 V – количество мочи, собранной за сутки, л;
 2,5 – содержание кальция в калибраторе, ммоль/л.

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Транспортирование и хранение наборов должно производиться при температуре 2–8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2–8°C в течение срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов. Не оставлять открытыми флаконы на воздухе, так как рН может уменьшиться вследствие поглощения углекислого газа из воздуха.

Рабочий реагент можно хранить при температуре 2–25°C не более 3 дней.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре 2–8°C не более 3 месяцев при условии достаточной герметичности флакона.

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

Для работы с набором рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками и пластиковую посуду одноразового применения. Недостаточно чистая посуда может стать источником грубых ошибок при проведении анализа, в связи с чем, необходимо тщательно мыть посуду и ополаскивать ее деионизованной водой.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

АО «ДИАКОН-ДС» гарантирует качество, эффективность и безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании набора реагентов по назначению в условиях, предусмотренных данной инструкцией по применению.

Гарантийные обязательства АО «ДИАКОН-ДС» распространяются с даты изготовления и на протяжении всего срока годности медицинского изделия, при условии надлежащего транспортирования, хранения и эксплуатации.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Набор реагентов **КАЛЬЦИЙ ОКФ ДДС** предназначен для применения в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике. При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Утилизацию, уничтожение и дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

По вопросам, касающимся качества набора **КАЛЬЦИЙ ОКФ ДДС**, следует обращаться в АО «ДИАКОН-ДС» по адресу: 142290, г. Пущино, Московской обл., ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-38; т/факс (495) 980-66-79.

Начальник Отдела Исследований и Разработок
АО «ДИАКОН-ДС»



В.М. Травкин

«СОГЛАСОВАНО»

Зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики ГБОУ ДПО
РМАПО Минздрава России



д.м.н., профессор В. В. Долгов

17 ФЕВ 2015

«___» _____ 20__ г



Пронумеровано, прошнуровано
5/мел/
_____ страниц
«04» мая 2015 г.

