

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

Код за НК 024:2019 – **45789**

REF № **HP013.02**

ТУ У 24.4-24607793-019-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО КАЛЬЦІЮ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ (З АРСЕНАЗО III)

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для визначення концентрації загального кальцію у біологічних рідинах в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях, науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **25 макро-, 50 напівмікро- чи 100 мікрОВИЗНАЧЕНЬ** загального кальцію (з урахуванням холостих та калібрувальних проб). (Див. *Примітку 4*)

Діапазон визначаємих концентрацій-від 0,25 ммоль/л до 3,75 ммоль/л (від 1 мг% до 15 мг%).

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 3 %.

Чутливість ⁶ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,005 ммоль/л (650 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Кальцій в зразку реагує з Арсеназо III, утворюючи забарвлений комплекс, який можна виміряти спектрофотометрично ¹.

СКЛАД НАБОРУ

- Арсеназний реагент - 1 флакон з (100 ± 2) мл або 2 флакона по (50 ± 2) мл;
 - арсеназо III - (0,20 ± 0,01) ммоль/л
 - 8-оксихінолін - (20,0 ± 0,2) ммоль/л
 - активатори
- Калібрувальний розчин кальцію - 1 флакон (5,0 ± 0,5) мл.
(2,50 ± 0,05) ммоль/л або (10,0 ± 0,2%) мг

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, що забезпечує вимір оптичної щільності розчинів при довжині хвилі **650 (640-660)** нм у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм (Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача).
- Пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).
- Піпетки місткістю 0,1 і 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ЗРАЗОК

Сироватка, натщесерце; брати кров при мінімальному пережимі вени, без напруження м'язів, чи після відновлення кровообігу впродовж 1 хвилини.

Плазма. Як антикоагулянт необхідно застосовувати тільки гепарин. Інші речовини, такі як ЕДТО (ЕДТО - етилендіамінтетраоцтова кислота), оксалат, фторид, цитрат заважають визначенню кальцію.

Сеча, добова. Збирати в ємність, що містить 10 мл HNO₃ (50%), або підкислити після збору до рН<2,0 для розчинення солей Са.

Перед тестуванням зразок необхідно відфільтрувати або центрифугувати і розвести ½ дистільованою водою.

Спинномозкова рідина (СМР).

Кальцій у зразках стабільний протягом до 10 діб при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Всі розчини готові для роботи. Придатні до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови зберігання при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 1:

Таблиця 1

Відміряти в пробірку, мл	Холоста проба		Калібрувальна проба		Дослідна проба	
	Мікро аналіз	Макро аналіз	Мікро аналіз	Макро аналіз	Мікро аналіз	Макро аналіз
Арсеназний реагент	1,00	4,00	1,00	4,00	1,00	4,00
Аналізуємий матеріал	-	-	-	-	0,01	0,04
Калібрувальний розчин	-	-	0,01	0,04	-	-
Дистильована вода	0,01	0,04	-	-	-	-

Змішують і витримують $(2,0 \pm 0,5)хв$ при кімнатній температурі (від плюс 20 °С до плюс 25 °С).
Вимірюють оптичну щільність дослідної проби ($E_{досл}$) і калібрувальної проби ($E_{кал}$) **проти холостої проби** (забарвлення стійке протягом $(60 \pm 5) хв$).
Фотометування - див. розділ “Обладнання”.

РЕФЕРЕНТНІ МЕЖІ ⁵

<u>Сироватка або плазма, норма</u>	мг/ 100 мл (мг %)	ммоль/л
▪ кров з пуповини:	8,2 – 11,2	2,05 – 2,80
▪ недоношені немовлята:	6,2 – 11,0	1,55 – 2,75
▪ 0 – 10 діб:	7,6 – 10,4	1,90 – 2,60
▪ 10 діб – 24 місяці:	9,0 – 11,0	2,25 – 2,75
▪ 24 місяці – 12 років:	8,8 – 10,8	2,20 – 2,70
▪ 12 – 18 років:	8,4 – 10,2	2,10 – 2,55
▪ 18 – 60 років:	8,6 – 10,0	2,15 – 2,50
▪ 60 – 90 років:	8,8 – 10,2	2,20 – 2,55
▪ старше ніж 90 років:	8,2 – 9,6	2,05 – 2,40
<u>СМР, норма</u>	4,2 – 5,4	1,05 – 1,35
<u>Сеча, добова, норма</u>	мг/добу	ммоль/добу
▪ відсутність Са у дітці:	5 – 40	0,13 – 1,00
▪ споживання Са нижче середнього рівня:*	50 – 150	1,25 – 3,75
▪ при середньому рівні споживання Са:*	100 – 300	2,50 – 7,50

- - середній рівень споживання Са -800 мг/добу (20 ммоль/добу).

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок концентрації кальцію проводять за формулою (1):

$$C = \frac{E_{досл.}}{E_{кал.}} \times 2,5(10), \text{ де} \quad (1)$$

- 2,5(10) – концентрація кальцію в калібрувальному розчині, ммоль/л (мг%);
- $E_{досл}$ - оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;
- $E_{кал}$ - оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності;
- C – концентрація кальцію в дослідній пробі, ммоль/л (мг%).

Для розрахунку концентрації кальцію у добовій сечі отримане вище значення (ммоль/л) множать на об'єм добової сечі, виражений у л (одержують ммоль/добу), або значення (мг%) множать на об'єм добової сечі, виражений в л та коефіцієнт 10 (одержують мг/добу).

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції та процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки зі значеннями концентрації, визначеними даним методом. Наприклад: «Ліонорм» (Чехія), «Біоконт С» (Росія), ”ФілоНорм” або „ФілоПат” (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

ПРИМІТКИ

1. Якщо **концентрація кальцію** в зразку **перевищує 3,75 ммоль/л**, його розводять у співвідношенні **1 : 1** дистильованою водою. Отриманий результат множать на 2.
2. Кювети і посуд, що використовуються при аналізі, повинні бути цілком чистими, спеціально підготовленими, тобто замоченими на декілька годин у HNO_3 (концентрація біля 2 моль/л), а потім ретельно промитими та висушеними.
3. Визначення проби та калібратору варто проводити при постійній температурі. Зміна температури під час вимірювань приводить до змінення екстинкції.
4. **Розраховано при витраті розчинів реагентів 1,0 мл (мікро-), 2,0 мл (напівмікро-), 4,0 мл (макро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення:**

Арсеназний реагент : Аналізуємий розчин = 100 : 1.

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	<i>Кальцій ARS</i>
Тип аналізатора (напівавтомат/автомат)	будь-який
Метод виміру	КТ
Зміна оптичної щільності	Збільшується
Довжина хвилі, нм	650
Вимір проти	Холостий проби
Температура реакції, °С	18-25
Чинник	-
Концентрація стандарту	2,5
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	1000 : 10
Кількість вимірів, не менше	1
Час передінкубації, с	3
Час реакції, с	120
Одиниці виміру	ммоль/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	0,6
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	0,00
Максимально допустиме $\Delta E/xv$, А	-
Межі лінійності	0,25-3,75
Максимум норми	2,6
Мінімум норми	2,02
Підтвердження лінійності (так/ні)	ні

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Кальцій є найпоширенішим катіоном в організмі людини, велика частина якого розподілена в кістках (99 %), м'яких тканинах і позаклітинній рідині. Його концентрація в плазмі регулюється гормоном паращитовидної залози, вітаміном Д і кальцитоніном.

Іони кальцію відіграють важливу роль в передачі нервових імпульсів, в підтримці нормальної скорочуваності м'язів та як кофактор, в певних ферментативних реакціях і коагуляції крові.

Гіперкальціємія може бути викликана інтоксикацією вітаміном Д, посиленою нирковою абсорбцією, остеопорозом, саркоїдозом, тиреотоксикозом, гіперпаратиреоїдизмом, численною мієломою, ідіопатичною гіперкальціємією грудних дітей і метастазами карциноми в кістці.

Гіпокальціємія може спричинитися первинним і вторинним гіпопаратиреозом, псевдогіпопаратиреозом, нестачею вітаміну D, виснаженням і поганою всмоктуваністю кишечника.

Підвищена концентрація кальцію в сечі виникає при нефролітазі і метаболічному ацидозі ^{2,4}.

Значення загального Са в СМР тісно пов'язані з концентрацією іонізованого Са в сироватці. СМР не віддзеркалює змін рівня Са в сироватці при гіпопаратиреозі. Збільшення рівня загального й іонізованого Са в СМР зустрічається при станах, що супроводжуються підвищенням вмісту білка в СМР ⁵.

Найнижчі значення Са в сироватці протягом доби спостерігаються в 02.00 - 04.00, найвищі - у 20.00 годин. Вертикальне положення протягом 15 хв викликає підвищення рівня Са на 4 - 7 %

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **03.03.2020**

(мінімальна зміна рівня іСа). Загальна концентрація Са в сироватці залежить від концентрації білка. При зміні останньої на 1 г/100 мл (10 г/л) відбувається рівнобіжна зміна концентрації Са приблизно на 0,8 мг/100 мл (0,2 ммоль/л). Помилкове підвищення рівня Са в сироватці може бути обумовлено венозним стазом при відбиранні проби і тривалому зберіганні крові. У зв'язку з тим, що солі Са осаджуються на склі, необхідно використовувати ретельно підготовлені шприци, контейнери і скляний посуд. Для діагностики гіперпаратиреозу необхідні повторні дослідження, оскільки часом рівень загального Са знаходиться в межах норми, а іСа підвищений. При зниженні рівня Са нижче 6,0-7,0 мг% (1,5-1,75 ммоль/л) може розвинути тетанія, а при метаболічному і респіраторному алкалозі тетанія може виникати при нормальному рівні загального Са в сироватці (але низькому іСа)⁵.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Ліпемія (тригліцериди < 100 мг/л) та білірубін (< 200 мг/л) не впливають. Гемоліз (гемоглобін > 2.5 г/л) впливає на хід визначення.

Визначенню заважають: **(знижують результат)** фториди, оксалати, цитрати, ЕДТО, сульфати; **(завищують результат)** солі Са (можливе забруднення дистильованої води або посуду), хлорпропамід, жирові емульсії.

Медикаментозні субстанції, що **підвищують рівень кальцію** в сироватці крові: лужні антациди, андрогени, солі Са, калюстерон, даназол, діетилстільбестрол (швидке підвищення за 24 години у хворих раком молочної залози), дігідротакстерол, постійне застосування діуретиків (включаючи хлоталідон, етакринову кислоту, фуросемід, тіазиди), ергокальциферол, ізотретиноїн, літій, прогестерон, парат-гормон, тамоксифен, тестолактон, вітамін Д, вітамін А⁵.

Медикаментозні субстанції, що **знижують рівень кальцію** в сироватці крові: альбутерол, альпростадил, аміноглікозиди, (наприклад, гентаміцин), аспарагіназа, барбітурати в літніх людей, кальцитонін, карбамазепін, карбенолоксон, карбоплатін, кортикостероїди; діуретики (пусковий ефект), включаючи ацетазоламід, етакринову кислоту, фуросемід; естрогени (після наступу менопаузи), флюориди, гастрин, глюкагон, глюкозу, індапамід, інсулін, ізоніазид, проносні (при надмірному вживанні), солі магнію, метицилін, фенітоїн, фосфати, плікаміцин, ізотонічний розчин хлориду натрію (при гіперкальціємії), тетрациклін (у вагітних)⁵.

На хід визначення також можуть робити вплив інші ліки і речовини^{3,4}.

УТИЛІЗАЦІЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. Арсеназний реагент - включає отруйні речовини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Michaylova V, Illkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with Arsenazo III. Anal Chim Acta 1971; 53: 194-198.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
3. Yound DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
4. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
5. Энциклопедия клинических лабораторных тестов под ред. Н.У.Тица, перевод под ред. В.В.Меньшикова, Москва, "Лабинформ", стр. 228-232 (1997).
6. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,

Україна, 49051 м. Дніпро, вул. Каштанова, 32

Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34

Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54

E-mail: filicit@ukr.net http://www.felicit.com.ua