«ПОГОДЖЕНО»	«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший заступник голови Державної служби України з лікарських засобів	Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія” Державного управління справами
09 листопада 2012 р. ***І.Б. Демченко***	*30 жовтня 2012 р.* ***І.П. Семенів***

Код за НК 024:2023 – **45789** **REF** ***№ НР013.01*** **ТУ У 24.4-24607793-019-2003**

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО КАЛЬЦІЮ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

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

Набір розрахований на **240 мікро-**, **120 напівмікро-**, **60 макровизначень** загального кальцію **(з урахуванням холостих та калібрувальних проб)** (Див. ***Примітку 3***).

Діапазон визначаємих концентрацій - від 0,125 ммоль/л до 4 ммоль/л (від 0,5 мг%до 16 мг%).

Коефіцієнт варіації у серії - не більше 3 %.

Чутливість [10] на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,006 ммоль/л (570 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяця від дня виготовлення.

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

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Іони кальцію в лужному середовищі реагують з о-крезолфталеїн комплексоном і утворюють кольоровий комплекс. Інтенсивність забарвлення комплексу фіолетового кольору пропорційна концентрації кальцію в дослідній пробі.

СКЛАД НАБОРУ

1. Хромоген - 1 флакон з (120 ± 4) мл;
   - о-крезолфталеїн комплексон - (0,12 ± 0,01) ммоль/л
   - 8-оксихінолін - (16,00 ± 0,16) ммоль/л
2. Буфер - 1 флакон з (120 ± 4) мл;
   - моноетаноламін - (0,80 ± 0,08) моль/л
3. Калібрувальний розчин кальцію (2,50 ± 0,05) ммоль/л або (10,0 ± 0,2%) мг - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, що забезпечує вимір оптичної щільності розчинів при довжині хвилі ***570 (550-590)*** 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).**
2. Пробірки місткістю 10 мл (згідно з чинними нормативними документами).
3. Піпетки місткістю 0,1 та 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 HNO_3 (50%), або підкислити після збору до pH<2,0 для розчинення солей Са.

Перед тестуванням зразок необхідно відфільтрувати або центрифугувати і розвести **1 : 2** дистильованою водою.

Спинномозкова рідина (СМР).

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

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

Всі розчини готові для роботи. Придатні до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови збереження при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

Набори повинні транспортуватися при температурі від + 2 °С до + 25 °С усіма видами критого транспорту. Допускається транспортування при температурі до + 25°С до 3-ох діб.

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	Напівмікро аналіз	Макро аналіз	Мікро аналіз	Напівмікро аналіз	Макро аналіз	Мікро аналіз	Напівмікро аналіз	Макро аналіз
Хромоген	0,50	1,00	2,00	0,50	1,00	2,00	0,50	1,00	2,00
Зразок для аналізу	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	0,04
Калібрувальний розчин	-	-	-	0,01	0,02	0,04	-	-	-
Буфер	0,50	1,00	2,00	0,50	1,00	2,00	0,50	1,00	2,00
Дистильована вода	0,01	0,02	0,04	-	-	-	-	-	-
Змішують і витримують ***(10 ± 1) 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 ***(30 ± 5) хв).*** Фотометування - див. розділ “Обладнання”.									

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок концентрації кальцію проводять за формулою (1):

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

- 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;
- С – 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 із значеннями концентрації, визначеними даним методом. Наприклад: Diacon N, Diacon P (Австрія), TruLab N, TruLab P (Німеччина), ”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.

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 паращітовидної залози, вітаміном Д і кальцитоніном.

Іони кальцію відіграють важливу роль в передачі нервових імпульсів, в підтримці нормального скорочення 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 спричинятися первинним і вторинним гіпопаратиреозом, псевдогіпопаратиреозом, нестачею вітаміну D, виснаженням і поганою всмоктуваністю кишечнику.

Підвищена концентрація кальцію в сечі виникає при нефролітіазі і метаболічному ацидозі [8,9].

Значення загального Са у СМР тісно пов’язані з концентрацією іонізованого Са у сироватці. СМР не віддзеркалює змін рівня Са у сироватці при гіпопаратиреозі. Збільшення рівня загального й іонізованого Са у СМР зустрічається при станах, що супроводжуються підвищенням вмісту білка у СМР [6].

Найнижчі значення Са у 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 % (мінімальна зміна рівня іСа). Загальна концентрація Са у 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 у 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 розвинутися тетанія, а при метаболічному і респіраторному алкалозі тетанія може виникати при нормальному рівні загального Са в сироватці (але низькому іСа) [6].

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

РЕФЕРЕНТНІ МЕЖІ [6]

Сироватка або плазма, норма	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
СМР, норма	4,2 – 5,4	1,05 – 1,35

Сеча, добова, норма	мг/добу	ммоль/добу
▪ відсутність Са у дієті:	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.

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: (**занижують 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** у сироватці крові: лужні антациди, андрогени, солі Са, калюстерон, даназол, діетилстільбестрол (швидке підвищення за 24 години у хворих раком молочної залози), дігідротахистерол, постійне застосування діуретиків (включаючи хлоталідон, етакринову кислоту, фуросемід, тіазиди), ергокальциферол, ізотретиноїн, літій, прогестерон, парат-гормон, тамоксифен, тестолактон, вітамін Д, вітамін А [6].

Медикаментозні субстанції, що **знижують рівень кальцію** у 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) [6].

На хід визначення також можуть робити вплив інші ліки і речовини [7,8].

ПРИМІТКИ

1. Якщо **концентрація кальцію** в зразку **перевищує 4 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. **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:**

Хромоген : Буфер : Аналізуємий розчин = 50 : 50 : 1

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	***Кальцій***
Тип аналізатора (напівавтомат/автомат)	будь-який
Метод виміру	КТ
Зміна оптичної щільності	Збільшується
Довжина хвилі, нм	570 (550-590)
Вимір проти	Холостой проби
Температура реакції, °С	20-25
Чинник	-
Концентрація стандарту	2,5
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	500 : 500 : 10
Кількість вимірів, не менше	1
Час передінкубації, с	-
Час реакції, с	600
Одиниці виміру	ммоль/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	0,4
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	0,00
Максимально допустиме ΔЕ/хв, А	-
Межі лінійності	0,125 - 4
Максимум норми	2,6
Мінімум норми	2,05
Підтвердження лінійності (так/ні)	ні

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. Буфер - включає моноетаноламін (їдка речовина), Хромоген включає о-крезолфталеїн комплексон та 8-оксихінолін (отруйні речовини).

ЛІТЕРАТУРА

1. H.V. Connerty, A.R. Briggs: Am J Clin Path 45, 290-296 (1966).
2. H.J. Gitelman: Anal Biochem 18, 521-531 (1967).
3. E.S. Baginski, S.S. Marie, W.L. Clark, B. Zak: Clin Chim Acta 46, 49-54 (1973).
4. W.R. Faulkner, S. Meites: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol. 9, Washington, DC, 125-129 (1982).
5. L.A. Kaplan, A.J. Pesce: Clinical Chemistry - Theory, analysis, and correlation. C.V. Mosby Company, St. Louis, 865-869 (1989).
6. Енциклопедія клінічних лабораторних тестів, за редакцією Н.У. Тіца, переклад з англ. за редакцією Меньшикова, стор. 228-232, «Лабинформ», Москва (1997).
7. Yound DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
8. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
9. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
10. 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

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **16.01.2024**