Далее определение провести так, как это указано для единичных определений.

Таблица 2

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка (плазма) крови, моча	0,02	-	-
Калибровочный раствор кальция	-	0,02	-
Рабочий раствор	2,00	2,00	2,00

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–8° С в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до +25° С не более 5 суток.

Срок годности набора – 1 год.

Все компоненты набора после вскрытия флаконов можно хранить в плотно укупоренном виде в темном месте при температуре +2–8° С не более 3 месяцев.

Рабочий раствор можно хранить в плотно укупоренной пластиковой посуде в темном месте при температуре +2–8° С не более 7 суток или при температуре +15–25° С не более 2 суток.

Для отбора проб на кальций необходимо использовать одноразовую пластиковую посуду (пробирки и наконечники для пипеток). Стеклянную посуду (пробирки) необходимо подвергать кипячению в разведенной соляной кислоте с последующим ополаскиванием дистиллированной водой.

При получении значений концентрации кальция выше 3,75 ммоль/л, анализируемый образец необходимо развести дистиллированной водой в соотношении 1:1, повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО «Агат–Мед». Телефон для справок: (495) 777-41-92.

Инструкция составлена: к.б.н. И.В. Смирновым – зав. лабораторией ГНЦ РАМН, В.В. Гладуном – главным технологом ООО «Агат-Мед».

Клиническая биохимия
Агат

105173, Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед».
Тел.: (495) 777-41-92.
Факс: (495) 741-25-19.
www.agat.ru agat@agat.ru

КАЛЬЦИЙ КФК АГАТ

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
От 05.08.2008 г. № 6251–Пр/08

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для определения кальция в биологических жидкостях с о-крезолфталеинкомплексоном

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для количественного колориметрического определения концентрации кальция в сыворотке, плазме крови и в моче человека в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 2,0 мл рабочего раствора на один анализ.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

о-Крезолфталеинкомплексон (КФК) образует с кальцием в щелочной среде комплекс красно-фиолетового цвета, интенсивность окраски которого при 575 нм пропорциональна концентрации кальция и измеряется фотометрически при длине волны 575 нм (560–580 нм). В реакционную смесь добавляют 8-оксихинолин, который связывает металлы, мешающие определению кальция (в частности, магний) и образует с кальцием менее прочный комплекс, чем КФК.

СОСТАВ НАБОРА

1. **Буфер** (аминометилпропанол 0,5 моль/л), 100 мл – 1 флакон;
2. **Хромоген** (0,16 ммоль/л КФК, 6,9 ммоль ОХ), 100 мл – 1 флакон;
3. **Калибровочный раствор кальция** (2,5 ммоль/л), 1 мл – 1 флакон;
4. **Раствор ЭДТА** (150 ммоль/л), 5 мл – 1 флакон.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения концентрации кальция – в диапазоне от 0,5 до 3,75 ммоль/л, отклонение от линейности – не более 5%.

Чувствительность определения – не более 0,2 ммоль/л.

Воспроизводимость: коэффициент вариации не более 5%.

Нормальные величины концентрации кальция составляют**:**

– для сыворотки крови и плазмы крови 2–2,6 ммоль/л;
– для мочи не более 2,5–6,2 ммоль/сут.

Качество набора можно оценивать по контрольным сывороткам отечественного или зарубежного производства, аттестованным данным методом.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин у обследуемого контингента.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с набором необходимо соблюдать правила техники безопасности, рекомендуемые при работе с кровью в соответствии с «Инструкцией по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебных и профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР от 17.01.91 г. и «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (М., 1981 г.).

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

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

– Спектрофотометр, длина волны 575 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 560–580 нм, кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм;
– пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,02; 0,5; 1,0 и 2,0 мл;
– пробирки пластиковые одноразовые вместимостью 5–10 мл;
– секундомер;
– вода дистиллированная;
– перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови, плазма крови, отобранная на гепарине, моча.

Недопустимо использовать плазму крови, отобранной на цитрате, оксалате, ЭДТА.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Для единичных определений все растворы готовы к употреблению. Для большого количества определений первоначально готовят рабочий раствор.

Рабочий раствор. Смешивают по одному объему Буфера и Хромогена с двумя объемами дистиллированной воды из расчета, что на один анализ необходимо 4,0 мл рабочего раствора.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Для единичных определений

Компоненты реакционной смеси внести в пробирки в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка (плазма) крови, моча	0,02	-	-
Калибровочный раствор кальция	-	0,02	-
Буфер	0,50	0,50	0,50
Хромоген	0,50	0,50	0,50
Вода дистиллированная	1,00	1,00	1,02

Содержимое пробирок тщательно перемешать, инкубировать при комнатной температуре (+18–25°С) в течение 5 минут, после чего измерить величину оптической плотности калибровочной и опытных проб против контрольной (холостой) пробы при 575 (560–580) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм. Окраска устойчива в течение 1 часа.

Концентрацию кальция рассчитать по формуле (1):

$$C = \frac{E_o}{E_K} \times 2{,}5 \qquad (1)$$

где: C – концентрация кальция в опытной пробе, ммоль/л;
E_o – оптическая плотность опытной пробы, ед.опт.плотн.;
E_K – оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;
2,5 – концентрация кальция в калибровочном растворе, ммоль/л.

Дополнение: если образцы сыворотки содержат гемоглобин (более 2 г/л), билирубин (более 0,2 г/л) или липемические (мутные), то, после выполнения указанной выше процедуры, добавить одну каплю (0,05 мл) раствора ЭДТА в опытную пробу, тщательно перемешать, инкубировать 1 минуту при комнатной температуре и измерить величину оптической плотности опытной пробы с ЭДТА против контрольной (холостой) пробы.

Скорректированное значение оптической плотности опытной пробы вычисляется по формуле (2):

$$E_o = E_u - E_{ЭДТА} \qquad (2)$$

где: E_o – скорректированное значение оптической плотности опытной пробы, ед.опт.плотн.;
E_u – исходная оптическая плотность опытной пробы, ед.опт.плотн.;
$E_{ЭДТА}$ – оптическая плотность опытной пробы с ЭДТА, ед.опт.плотн.

2. Для большого количества определений

Компоненты реакционной смеси внести в пробирки в количествах, указанных в таблице 2.

Концентрацию кальция в пробе рассчитать по формуле (1).