

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО КАЛЬЦИЯ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ (КАТ.№№ В-11261, В-11262, В-11263)**

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Наборы предназначены для фотометрического количественного определения содержания общего кальция в сыворотке и плазме крови в научных исследованиях. Наборы рассчитаны на 500, 100 и 200 определений при расходе реагентов 1 и 2 по 0,5 мл на 1 определение.

**ПРИНЦИП МЕТОДА**

Кальций в щелочной среде образует с *o*-крезолфталеином окрашенный комплекс. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию общего кальция в исследуемой пробе.

**СОСТАВ НАБОРА**

Реагент 1 (P1). МЭА-буфер, pH 10,7.

Реагент 2 (P2). *o*-Крезолфталеинкомплексон, 8-оксихинолин, соляная кислота.

Реагент 3 (P3). Калибратор кальция, 2,5 ммоль/л.

*Кат.№ Комплектация*

В-11261 P1 1x250 мл + P2 1x250 мл + P3 1x3 мл

В-11262 P1 1x50 мл + P2 1x50 мл + P3 1x3 мл

В-11263 P1 1x100 мл + P2 1x100 мл + P3 1x3 мл

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

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

**Линейность.** От 0,5 до 5 ммоль/л. Отклонение от линейности – не более 3%.

**Коэффициент вариации** – не более 3%.

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

Реагенты наборов содержат едкие вещества (моноэтаноламин и соляную кислоту) и вредное вещество (8-оксихинолин). При попадании их на кожу и слизистые следует промыть поражённое место большим количеством проточной воды.

**ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

Спектрофотометр, фотоэлектроколориметр, полуавтоматические анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объём 0,01, 0,5 и 1,0 мл, секундомер, пробирки, вместимостью 10-20 мл, штатив, дистиллированная вода.

**АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Сыворотка, гепаринизированная или ЭДТА-плазма. Предпочтительнее образцы без липемии.

Кальций в сыворотке и плазме крови стабилен в плотно закрытой пробирке при 18-25°C в течение 6 суток, при 2-8°C – в течение 4 недель [1].

**ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА**

Приготовление монореагента для схемы 1

Смешать необходимые количества реагентов 1 и 2 в соотношении 1:1. Полученный монореагент стабилен при температуре 2-8°C в течение 3 суток.

**ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

Длина волны 570 нм (540-590).

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 18-25°C.

**Схема 1. Запуск реакции образцом**

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

**Схема определения**

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Образец, мл	0,01	–	–
Калибратор, мл	–	0,01	–
Дистиллированная вода, мл	–	–	0,01
Монореагент, мл	1,00	1,00	1,00

*Содержимое пробирок перемешать и инкубировать 5 минут при 18-25°C. Измерить оптическую плотность опытной пробы ( $E_{обр.}$ ) и калибровочной пробы ( $E_{кал.}$ ) относительно холостой пробы.*

Окраска стабильна в течение 1 часа.

**Схема 2. Запуск реакции реагентом 2**

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объёмы компонентов могут быть пропорционально изменены).

**Схема определения**

Раствор	Опытная проба	Калибровочная проба	Холостая проба
Образец, мл	0,01	–	–
Калибратор, мл	–	0,01	–
Дистиллированная вода, мл	–	–	0,01
Реагент 1, мл	0,5	0,5	0,5
Реагент 2, мл	0,5	0,5	0,5

*Содержимое пробирок перемешать и инкубировать 5 минут при 18-25°C. Измерить оптическую плотность опытной пробы ( $E_{обр.}$ ) и калибровочной пробы ( $E_{кал.}$ ) относительно холостой пробы.*

Окраска стабильна в течение 1 часа.

**РАСЧЁТ**

Содержание общего кальция **C** в анализируемой пробе считать по формуле:

$$C = \frac{E_{обр.}}{E_{кал.}} \cdot 2,5 \text{ ммоль/л,}$$

где **2,5** – концентрация кальция в калибраторе, ммоль/л.

## ОСНОВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Конечная точка
Длина волны, нм	570 (540-590)
Измерение против	Рабочего реагента
Температура реакции	18-25°C
Единица измерения	ммоль/л
Число знаков после запятой	2
Концентрация стандарта, ммоль/л	2,5
Соотношение реагент/проба	100:1
Время реакции, сек.	300
Верхний предел абсорбции реагента против воды, E	2,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0
Границы линейности	0,5-5,0
Максимум нормы	2,75
Минимум нормы	2,25

## ПРИМЕЧАНИЯ

1. При содержании кальция в исследуемой пробе выше 5 ммоль/л, образец разбавить дистиллированной водой в 2 раза. Анализ повторить, величину рассчитанной концентрации умножить на 2.
2. Основным источником ошибок является загрязнение пробирок и кювет. Пробирки и кюветы после проведения анализа необходимо замачивать в 6-7% растворе соляной кислоты или в 1-2% растворе ЭДТА, а затем тщательно промыть бидистиллированной или деионизованной водой. Предпочтительно использовать одноразовую пластиковую посуду.

## НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно.

Сыворотка человека 2,25-2,75 ммоль/л

## УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРОВ

Наборы должны храниться при температуре 2-25°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (18 месяцев). Допускается однократное замораживание. Калибратор кальция после вскрытия флакона допускается хранить при 2-8°C не более 1 месяца.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Миньшикова, М., 1999, "Лабинформ".