

A szérum és a vizelet kalcium koncentrációjának meghatározására szolgáló reagensek készlet. Kolorimetriás, ortokrezoltfalein-komplex módszer.

Az emberi testben a kalcium 98-99%-a a csontokban és a fogakban található kötött formában. A verbena lévő kalcium 50%-a ionos formában kering, míg a másik fele fehérjékhez kötött.

A vérben lévő ionos kalcium koncentrációját a sav-bázis háztartás befolyásolja, acidózisban az aránya magasabb, alkalózisban alacsonyabb.

A kalcium szint emelkedhet primér hyperparathyreosisban, daganatos betegségekben, osteoporosisban, Paget és Addison kórban, A és D vitamin túladagolásban. Alacsonyabb Ca értéket mérünk hypoparathyreosisban, felszívódási zavarokban, krónikus veseelégtelenségben, nephrosis szindrómában, májcirrhosisban, akut pancreatitisben.

A meghatározás elve

A kalcium lúgos közegben az ortokrezoltfaleinnel biborvörös komplexet ad. A kialakult szín intenzitása arányos a minta kalcium koncentrációjával.

Referenciaértékek

Szérum:	újszülött	2,3 – 2,5 mmol/l (9,2 – 10,0 mg/dl)
	gyerek	2,5 – 3,0 mmol/l (10,0 – 12,0 mg/dl)
	felölt	2,25 – 2,75 mmol/l (9,0 – 11,0 mg/dl)
Vizelet:		2,5 – 8,0 mmol/24 h (100 – 320 mg/24h) vagy
		0,1 – 0,7 mmol/mol kreatinin (37 – 265 mg/g)
	férfi	0,225-9,47 mmol/l (0,9-37,9 mg/dl)
	nő	0,125-8,92 mmol/l (0,5-35,7 mg/dl)

Minden laboratóriumnak ajánlott a saját normál tartományát meghatározni!

Reagensek
1. reagens (R1)

AMP (2-amino-2-metil-1-propanol) 400 mmol/l

2. reagens (R2)

o-krezoltfalein 0,62 mmol/l
8-hidroxi-kinolin 69 mmol/l

3. Standard

Csak a 45241S katalógusszámú terméknél. Kérjük olvassa el a mellékelt standard használati utasítást.

Minta

Szérum Stabilitás: 1 hét (2-8°C). Vizelet 1:2 arányban hígítva desztillált vízzel. (A vizelet pH-ját híg HCl-dal állítsuk be pH:3-4-re.)

A reagensek stabilitása

Fénytől védve és 2-25 °C-on tárolva
felbontás nélkül: a címkén jelzett időpontig
felbontás után: 30 nap
kalibrációs gyakoriság: 1 nap
onboard stabilitás: 1 nap
A stabilitások kizárólag új rendszerflakon használata esetén érvényesek!

A VIZSGÁLAT KIVITELEZÉSE
A munkareagens elkészítése

Keverjük össze egy térfogatrészes puffer oldatot (R1) egy térfogatrészes kromogén (R2) reagenssel.

A reagensek stabilitása

Amennyiben a munkareagens 578 nm-en mért abszorbanciája meghaladja a 0,5-öt, a reagens nem használható.

A mérési eljárás

Hullámhossz: 570 nm (550-590 nm)
Hőmérséklet: 37°C
Fényút: 1 cm
Mérési mód: végpontos (növekvő)

Bemérés

	vak	standard	minta
munkareagens	1 ml	1ml	1ml
standard		20µl	
minta			20µl
desztillált víz	20µl		

Keverjük össze és 5 perc inkubáció után olvassuk le az abszorbanciaértéket reagensvakkal szemben.

A reagensek előzetes keverés nélkül is alkalmazhatók. Ebben az esetben az arányok megtartása mellett 0,5 ml R1-et és 0,5 ml R2-t mérünk a mintához.

Kalibráció (37°C, krezoltfalein-komplex módszer)

S1: Desztillált víz
S2: Diagnosticum DunaCal katalógusszám: Dcal vagy
Kalcium standard Kat.: 52001 vagy
Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) vagy
Randox Calibration Serum Level I vagy
Randox Calibration Serum Level II

Ajánlott új kalibrációt végezni:

- új gyártási számú készlet felbontásakor,
- ahogy ezt a laboratórium belső minőségügyi rendszere előírja.

Az eredmény kiszámítása

$$\frac{A_{minta}}{A_{standard}} \times C_{standard} = C_{minta}$$

A=abszorbancia

C=koncentráció

Belső minőségellenőrzés

A minőségellenőrzés ajánlott minden laboratóriumnak. Két különböző szintű (egy normál és egy emelkedett) kontrollt javasolunk. A kontrollok mért értékeinek a gyártó által meghatározott tartományba kell esniük. Ha a tartományon kívül esnek az értékek, ajánlott korrigálni a méréseket. Ajánlott kontrollok: Diagnosticum DunaCont N (Katalógusszám: Dcon-N) és DunaCont P (Katalógusszám: Dcon-P). Vizeletanalízishez a kétszintű DunaCont Urine kontroll ajánlott (DCONU2)

A REAGENS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐ

A méréseket Olympus 600-as automatán végeztük (37°C). Átváltás: [mmol/l]=[mg/dl]/4

Linearitás

A módszer 4,5 mmol/l (18,0 mg/dl) kalcium koncentrációig lineáris.

Érzékenység

Minden laboratórium számára ajánlott meghatározni saját érzékenységi határt, mivel ezt az alkalmazott spektrofotométer érzékenysége is befolyásolja. A kézi mérés körülményei között 570 nm-en mért 0,001 abszorbanciaváltozás megegyezik 0,006 mmol/l (0,024 mg/dl) kalcium koncentrációval.

Precizitás

n=20	Reprodukálhatóság		
	Átlag konc. (mmol/l)	SD	CV %
1. minta	2,16	0,046	2,14
2. minta	3,62	0,089	2,46

Korreláció

Reagensünket összehasonlítottuk más gyártó kalcium reagensével.

A korrelációs regresszió adatai a következők:

korrelációs koefficiens: $r = 0,9805$










lineáris regresszió: $y \text{ (mmol/l)} = 1,034x - 0,17$

(x= más gyártó reagens, y= saját reagens)

Megjegyzés

EDTA vagy más kelátképző anyagok nyomokban is zavarják a mérést. A mérés során használt edények és anyagok tisztaságára, kalciummentességére fokozottan ügyeljünk! Ne használja a reagenst a csomagolása címkéjén feltüntetett lejárati dátum eltelte után. A készítményeket, tesztoldatokat és reagenset csak az itt leírt teszthez szabad felhasználni.

Csak in vitro diagnosztikai használatra alkalmas!
A címkéken a következő szimbólumok lehetnek

	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Gyártási szám
	Gyártó		Kódszám
	CE-jelölés		Tárolási irány
	Tárolási hőmérséklet		Biológiai veszély
	Lejárat idő (év/hónap)		

Irodalom

Stern J. Lewis W.P.: Clin. Chem Acta 2,576 (1957)

Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)

Verzió: 52-DL-2017-15

Felülvizsgálat dátuma: 2017-01

Reagent kit for determination of calcium concentration in serum and urine. A colorimetric method based on complex formation with ortho-cresolphthalein.

In the human body 98 - 99% of calcium is present in bound form in bones and teeth. About 50% of the blood calcium circulates in ionic form, the other part as bound to proteins. The concentration of ionic calcium is influenced by the acid-base household of the body. The ratio of ionic/protein-bound calcium is higher in acidosis and lower in alkalosis. Elevated calcium levels are found in association with primary hyperparathyroidism, neoplastic diseases (eg. breast cancer, bronchial cancer, pancreatic tumor), osteoporosis, Paget's disease and Addison's disease, overdose of the vitamins A and D, hyperthyroidism. Lower calcium values are measured in hypoparathyroidism, disturbances of the absorption, chronic renal failure, nephrotic syndrome, hepatic cirrhosis, acute pancreatitis.

Principle

Calcium in alkaline medium forms a purple-red complex with ortho-cresolphthalein. Intensity of the developed color is proportional to the calcium concentration in the sample.

Reference values

Serum:	newborns	2,3 – 2,5 mmol/l (9,2 – 10,0 mg/dl)
	children	2,5 – 3,0 mmol/l (10,0 – 12,0 mg/dl)
	adults	2,25 – 2,75 mmol/l (9,0 – 11,0 mg/dl)
Urine:		2,5 – 8,0 mmol/24 h (100 – 320 mg/24h) or
		0,1 – 0,7 mmol/mol creatinine (37 – 265 mg/g)
	male	0,225-9,47 mmol/l (0,9-37,9 mg/dl)
	female	0,125-8,92 mmol/l (0,5-35,7 mg/dl)

It is recommended that each laboratory should assign its own normal range.

Reagents

- Reagent (R1)
AMP (2-amino-2-methyl-1-propanol) 400 mmol/l
- Reagent (R2)
o-Cresolphthalein 0.62 mmol/l
8-Hydroxyquinoline 69 mmol/l

Sample

Serum. Stability: 1 week (2-8°C)
 24-h collected urine sample diluted with distilled water (1:2). (The pH-value of the urine should be adjusted to pH 3-4 with diluted HCl).

Stability

without opening: till the expiry date indicated on the label
 after opening: 30 days
 calibration frequency: 1 days
 onboard stability: 1 days
 Stability data are valid only when using new system bottle!

PROCEDURE
Preparation of working reagent

Mix 1 volume part of buffer solution (R1) with 1 volume part of chromogen reagent (R2).

Stability of working reagent

Store the reagent protected from light. Store it between 2-8 °C.
 If the optical density of working reagent is higher than 0.5 at 578 nm the reagent can not be used.

Assay conditions

Wavelength: 570 (550-590) nm
 Temperature: 37 °C
 Cuvette: 1 cm light path
 Method: end point (increasing)

Pipette into cuvette

	blank	standard	sample
working reagent	1 ml	1 ml	1 ml
standard		20 µl	
sample			20 µl
distilled water	20 µl		

Mix and incubate the reaction mixtures at room temperature for 5 minutes. Read the optical density against the reagent blank.

Reagents can also be applied without previous mixing. In this case under maintaining the ratios, 0.5 ml (R1) and 0.5 ml (R2) should be given to the samples.

Calibration(37°C,cresolphthalein-complexone method)

S1:distilled water
 S2: Diagnosticum DunaCal Cat. No.: Dcal or
 Calcium standard Cat. No.: 152001 or
 Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system)
 Randox Calibration Serum Level I
 Randox Calibration Serum Level II

Calibration frequency

Calibration is recommended:
 - after reagent lot change,
 - as required following quality control procedures.

Calculation using calibration

$$\frac{A_{sample}}{A_{standard}} \times C_{standard} = C_{sample}$$

C=concentration A=absorbance

Quality control

A quality control program is recommended for all clinical laboratories. The analysis of control material in both the normal and abnormal ranges with each assay is recommended for monitoring the performance of the procedure. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits. Recommended controls: Diagnosticum DunaCont N (Cat. No.: Dcon-N) and DunaCont P (Cat. No.: Dcon-P). DunaCont Urine two levels control (DCONU2) is recommended for urine analysis.

PERFORMANCES DATA

The following data were obtained using the Olympus 600 analyzer (37°C). Conversion factor: [mmol/l]=[mg/dl]/4

Linearity

The test is linear up to 4.5 mmol/l (18,0 mg/dl) calcium concentration.

Sensitivity

It is recommended that each laboratory establishes its own range of sensitivity as this is limited by the sensitivity of the spectrophotometer used. Under manual conditions however, a change of 0.001 Abs is equivalent to 0.006 mmol/l (0,024 mg/dl) calcium concentration at 570 nm.

Precision

n=20	Reproducibility		
	Average concentration (mmol/l)	SD	CV%
sample I	2.16	0.046	2.14
sample II	3.62	0.089	2.46

Correlation

Comparative studies were done to compare our reagent with another commercial calcium assay on human serum samples.

The results from these studies are detailed below.










Correlation coefficient: r=0.9805
 Linear regression: y (mmol/l)= 1.034x-0.17
 (x= other commercial reagent, y= own reagent).

Note

Trace amounts of EDTA and other chelating agents interfere with the test. Utmost care should be given to purity and freedom from calcium of laboratory equipments and materials used for the tests.

Do not use reagents after the expiry date stated on each reagent container label. Do not use products, test solutions and reagents described above for any purpose other than described herein.

For in vitro diagnostic use only.
The following symbols can be used on the labels

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Manufacturer		Catalogue number
	CE-marking		This way up
	Temperature limitations		Biological risk
	Use by (year/month)		

Bibliography

Stem J., Lewis W.P.: Clin. Chem. Acta 2, 576 (1957)
 Szabó A.: Klinikai laboratóriumi vizsgálatok és paraméterek (2010) (ISBN 978-963-9879-75-1)

Version: 52-DL-2017-15
 Date of revision: 2017-01