



شرکت افلاک طب هگمتانه

کیت تشخیص کمی کلسیم در سرم و ادرار با روش های دستی و دستگاهی

اطلاعات سفارش:

شماره سفارش:	1.CAL01.99.180
حجم محلول:	R1: 6 x 30 mL

مقدمه (1):

کلسیم در بسیاری از عملکردهای سلولی نقش اساسی دارد: درون سلول در انقباض عضلانی و متابولیسم گلیکوژن و در خارج سلول، در معدنی شدن استخوان، در انعقاد خون و در انتقال پیام های عصبی. کلسیم در پلاسما به سه شکل وجود دارد: آزاد، متصل به پروتئین ها و کمپلکس با آنیون ها به صورت فسفات، سترات و بی کرینات. کاهش سطح کلسیم می تواند با بیماری های بافت استخوان (به ویژه پوکی استخوان)، بیماری های کلیوی (به ویژه تحت دیالیز)، اختلال در جذب روده ای و کم کاری پاراتیروئید همراه باشد. افزایش کلسیم کل را می توان در هیپرپاراتیروئیدیسم، بیماری های بدخیم با متاستاز و سارکوئیدوز مشاهده کرد.

اساس آزمایش (2):

کلسیم در pH خنثی با آرسنازو کمپلکس بنفش رنگ تشکیل میدهد. شدت رنگ تولید شده در طول موج 660 nm متناسب با غلظت کلسیم می باشد.

ریجننت ها:

محتویات و مقادیر: (براساس محلول آماده شده برای کار)

Imidazol buffer pH 6.8	100	mmol/L
Arsenazo iii	0.2	mmol/L
Detergent	1	%
Preservative	1	%

آماده سازی:

محلول ها به صورت آماده برای مصرف می باشد.

شرایط نگهداری و پایداری محلول ها:

معرف ها تا تاریخ انقضای مندرج روی کیت، در صورتی که در دمای 2 تا 8 درجه سانتی گراد نگهداری شوند و از آلودگی جلوگیری شود، پایدار هستند. معرف ها را منجمد نکنید و از نور محافظت کنید.

بهداشت، ایمنی و دفع مواد زائد:

جهت حذف و دور ریز تمام پسماندها طبق الزامات قانونی و SOP آزمایشگاه انجام شود. برای جلوگیری از آلودگی معرفها، از وسایل تمیز یا یکبار مصرف استفاده نمایید. هنگام کار از دستکش استفاده کنید. به دلیل وجود سدیم آزاد از تماس معرفها با پوست و چشم خودداری کنید.

نمونه ها (3, 4):

نمونه سرم عاری از همولیز، نمونه ادرار 24 ساعته و نمونه ادرار رندوم.

نمونه	پایداری		
	اتاق (ساعت)	یخچال (روز)	فریزر (روز)
سرم	8	21	240
ادرار	72	14	14

مواد نگهدارنده نمونه ادرار 24 ساعته:

جهت جمع آوری نمونه ادرار 24 ساعته نیازی به افزودن مواد نگهدارنده نیست. در صورتیکه اندازه گیری کلسیم نمونه ادرار 24 ساعته طی 4 ساعت پس از جمع آوری نمونه انجام نشود از مواد نگهدارنده استفاده می شود. جهت جلوگیری از تشکیل رسوب نمک های کلسیم، پس از جمع آوری ادرار، نمونه را با افزودن HCL 6N, 10 mL اسیدی نمایید و pH را به کمتر از 2 برسانید.

50% Acetic Acid 25mL per 24hr, Boric Acid 10gr per 24hr, 6M Hydrochloric Acid 30mL per 24hr, 6M Nitric Acid 15mL per 24hr, Diazolidinyl Urea (250 g/L) 5 mL per 24-hour, Thymol 10mL per 24hr.

روش انجام آزمایش:

طول موج:	660 nm (λ main) - 700 nm (λ sub)
دما:	37 °C
قطر کووت:	1 cm
نسبت سمبل / ریجننت	1/50

دستگاه را در مقابل پلاتک صفر کنید

نمونه	استاندارد	پلاتک	
-	-	20	آب مقطر (uL)
-	20	-	استاندارد (uL)
20	-	-	نمونه (uL)
1000	1000	1000	معرف کاری (uL)

مخلوط کنید و پس از 5 دقیقه انکوباسیون در 37 درجه سانتی گراد جذب نوری نمونه و استاندارد را در مقابل پلاتک اندازه گیری کنید.

محاسبات:

$$\Delta A: (A \lambda \text{ main} - A \lambda \text{ sub})$$

در سرم و پلاسما:

$$\frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Standard}} \times \text{Conc. Std/Cal (mg/dL)} = \text{Conc. Calcium (mg/dL)}$$

در ادرار 24 ساعته:

$$\text{Urine 24hr (mg/24hr)} = [\text{Urine Calcium (mg/dL)} \times \text{Urine Volume (ml)}] / 100$$

ضریب تبدیل واحد:

$$\text{Calcium [mg/dL]} \times 0.25 = \text{calcium [mmol/L]}$$

عوامل مداخله گر^(۹):

Additive		Serum with additive	
Name	Final concentration	Calcium concentration (gr/dL)	Interference%
TG	None	9.10	
	400 (mg/dL)	9.10	0.00
	600	9.12	0.22
	800	9.20	1.10
	1000	9.25	1.65
	1200	9.29	2.09
Hb	None	9.10	
	2 (g/L)	9.12	0.22
	4	9.23	1.43
	6	9.31	2.31
B.T	None	9.10	
	1 (mg/dL)	9.10	0.00
	5	9.10	0.00
	10	9.15	0.55
	15	9.19	0.99
	20	9.27	1.87
Ascorbic acid	None	9.10	
	1000 (mg/dL)	9.12	0.22
	2000	9.25	1.65

مراجع:

1. TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R.
2. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971;53: 194-8.
3. <https://www.mayocliniclabs.com>
4. Tietz, N.W., Clinical guide to laboratory tests, 4rd Ed. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2006), 202.
5. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17A (2004).
6. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition, CLSI EP06-A (2003).
7. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline—. Evaluation, CLSI EP5-A2 (2004).
8. Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline. CLSI EP9-A2, (2002).
9. Interference Testing in Clinical Chemistry; approved guideline. CLSI EP07-A2, 2005.

علائق:

	Temperature limitation		Catalogue number
	Manufacture address		Expiration date
	Batch code		Date of manufacture
	In vitro diagnostic medical device		Reagent 1
	Consult instruction for use		

دامنه مرجع^(3, 4):

واحد	دامنه مرجع	سن	نمونه
mg/dL	11.0-6.2	نوزاد زودرس (Premature) 1-10 روز 10 روز تا 24 ماه 24 ماه تا 12 سال 12 تا 18 سال	سرم
	10.4-7.6		
	11.0-9.0		
	10.8-8.8		
	10.2-8.4		
g/24hr mg/dL	10.0-8.6	بالغین: 18 تا 60 سال 60 تا 90 سال بیشتر از 90 سال	ادرار
	10.2-8.8		
	9.6-8.2		
mg/dL	100-300	24 hr	رندوم: مردان زنان
mg/g Creatinine	244-12 328-9	رندوم بر اساس کراتینین: مردان زنان	
mg/dL	5.4-4.2	...	CSF

هر آزمایشگاه محدوده مرجع خود را تعیین نماید.

کنترل کیفی:

جهت انجام کنترل کیفی و کالیبراسیون می توانید از کنترل ها و کالیبراتورهای بیوشیمی تجاری استفاده کنید.

ویژگی ها و کارایی کیت:

محدوده اندازه گیری^(۵, ۶):

نمونه سرم:

Measuring Range: 0.37 – 20 mg/dL
Limit Of Blank (LOB): 0.0 mg/dL
Limit Of Detection (LOD): 0.02 mg/dL
Limit Of Quantification (LOQ): 5.0 mg/dL

نمونه ادرار:

Measuring Range: 1.25 – 20 mg/dL
Limit Of Blank (LOB): 0.0 mg/dL
Limit Of Detection (LOD): 0.02 mg/dL
Limit Of Quantification (LOQ): 1.25 mg/dL

غلظت های بالاتر از 20 mg/dL را به نسبت 1 قسمت از نمونه + 1 قسمت از سرم فیزیولوژی رقیق نموده (1/2) و جواب آزمایش در عدد 2 ضرب شود.

دقت^(۷):

	n	Mean (mg/dL)	Within Run CV%	Total CV%
Low	80	8.4	3.0	2.8
Normal	80	10.2	1.3	1.4
High	80	13.8	1.1	1.1

آزمایشها با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر در دمای 37 °C انجام شده است.

مقایسه روش ها^(۸):

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت کلسیم شرکت افلاک طب هگمتانه (Y) با کیت تجاری کلسیم (X) روش آرسنازو، بر روی 40 نمونه بیمار با محدوده غلظت 5.0- 15.5 mg/dL نتایج زیر به دست آمده است:

Correlation Coefficient: (r)= 0.9993
Linear regression: Y= 1.0013 (x) – 0.04 mg/dL

--	--