

## UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije kalcijuma u serumu, plazmi i urinu.

## METODA

Spektrofotometrijski, o-krezolftalein metod.

## KLINIČKI ZNAČAJ

Najveći deo kalcijuma, oko 99 %, se nalazi u kostima i zubima u obliku soli hidroksiapatita. Kao ekstracelularni jon, zajedno sa fosfatima, čini neorganski deo kostiju i zuba. U plazmi se kalcijum nalazi vezan za proteine, u obliku jedinjenja sa anjonima i u jonskom obliku, u kome je on fiziološki aktivan. Kalcijum ima brojne funkcije u organizmu, te otuda postoji potreba za određivanjem njegovog sadržaja. Promene koncentracije kalcijuma se manifestuju kao hiperkalcemija i hipokalcemija.

## PRINCIP ODREĐIVANJA

Kalcijum u alkalnom medijumu formira obojeno kompleksno jedinjenje sa o-krezolftalein ligandom. Intenzitet boje nastalog kompleksnog jedinjenja direktno je proporcionalan koncentraciji kalcijuma u uzorku; apsorbancija se meri na 572 nm<sup>1-3</sup>.

## REAGENSI

Kalcijum OCP, Ref: KOC-200 se sastoji od 2 reagensa i 1 standarda:

|                           |            |
|---------------------------|------------|
| Rg.1 (Pufer reagens)      | 1 x 100 mL |
| Rg.2 (Kolor reagens)      | 1 x 100 mL |
| Rg.3 (Standard kalcijuma) | 1 x 5 mL   |

## SASTAV REAGENASA

### Rg.1 Pufer reagens

|                  |           |
|------------------|-----------|
| Kalijum karbonat | 180mmol/L |
| TRIS             | 60 mmol/L |
| Stabilizator     |           |

### Rg.2 Kolor reagens

|                            |           |
|----------------------------|-----------|
| o-Krezolftalein komplekson | 0,1mmol/L |
| 8-Hidroksi hinolin         | 7,0mmol/L |

### Rg.3 Standard kalcijuma

2,5 mmol/L

## UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

## PRIPREMA REAGENSA

U čistoj bočici pomešati iste zapremine Rg.1 i Rg.2 .

## STABILNOST REAGENSA

Reagens je stabilan do isteka označenog roka na bočici, ako se čuva na propisanoj temperaturi.  
Pripremljen radni reagens je upotrebljiv 14 dana na temperaturi od 2-8°C ili 7 dana na sobnoj temperaturi, zaštićen od svetlosti.

## UZORCI

Kao uzorak koristiti serum, plazmu pripremljenu isključivo sa heparinom i urin. Uzorak urina razblažiti (1+1) dejonizovanom vodom i dobijeni rezultat pomnožiti sa dva.

## DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

|                     |              |        |
|---------------------|--------------|--------|
| - Multikalibrator   | Ref: KLB-012 | 4x3 mL |
| - Kontrolni serum N | Ref: KSN-020 | 4x5 mL |
| - Kontrolni serum P | Ref: KSP-020 | 4x5 mL |

## ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| Talasna dužina : 1°      | 572 nm    |
| Kiveta :                 | 1 cm      |
| Temperatura :            | 20 -37° C |
| Odnos : uzorak / reagens | 1 / 25    |
| Reakcija :               | End Point |
| Inicijalna A reagensa :  | < 0.6 Abs |

Pipetirati u epruvete :

|                  | Auz    | Ast    | Asp    |
|------------------|--------|--------|--------|
| Uzorak           | 40 µL  | -      | -      |
| Standard         | -      | 40 µL  | -      |
| Destilovanu vodu | -      | -      | 40 µL  |
| Radni reagens    | 1,0 mL | 1,0 mL | 1,0 mL |

Promešati pripremljene rastvore i inkubirati 3 minuta na temperaturi od 20-37°C. Izmeriti apsorbancije uzorka (A<sub>UZ</sub>) i standarda (A<sub>ST</sub>) prema slepoj probi reagensa (A<sub>SPR</sub>) na 572 nm. Merenja apsorbancija izvršiti u toku 30 minuta.

## KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti standard kalcijuma ili multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

## KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

## IZRAČUNAVANJE

$$C = \frac{A_{UZ}}{A_{ST}} \cdot C_{ST} \text{ (mmol/L)}$$

## REFERENTNE VREDNOSTI

|        |                       |
|--------|-----------------------|
| Serum: | 2,16 - 2,60 mmol/L    |
| Urin:  | 2,50 - 6,20 mmol/ 24h |

### ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

#### Opseg merenja

Od 0,03 do 4,2 mmol/L kalcijuma.

Ukoliko je koncentracija kalcijuma veća od 4,2 mmol/L, razblažiti uzorak (1+ 1) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 2.

#### Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,01 mmol/L

LoQ = 0,03 mmol/L

#### Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,46 \Delta\text{Abs}$  po mmol/L

#### Interferencije

Na određivanje kalcijuma ne utiču:

konjugovan i nekonjugovan bilirubin u koncentraciji (c) < 60 mg/dL

hemoglobin u c < 1000 mg/dL

trigliceridi u c < 2000 mg/dL .

#### Tačnost određivanja

Za određivanje tačnosti korišćen je kalibrator čija vrednost iznosi 2,69 mmol/L kalcijuma, pri čemu su dobijene sledeće statističke vrednosti:

$X_{sr} = 2,694$      $S_d = 0,045$      $KV = 1,68 \%$

#### Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

|                 |                  |              |                |
|-----------------|------------------|--------------|----------------|
| Normalan serum  | $X_{sr} = 2,286$ | $S_d = 0,05$ | $KV = 2,16 \%$ |
| Patološki serum | $X_{sr} = 3,700$ | $S_d = 0,06$ | $KV = 1,64 \%$ |

Reproducibilnost između serija

|                 |                  |              |                |
|-----------------|------------------|--------------|----------------|
| Normalan serum  | $X_{sr} = 2,287$ | $S_d = 0,06$ | $KV = 2,40 \%$ |
| Patološki serum | $X_{sr} = 3,690$ | $S_d = 0,07$ | $KV = 1,95 \%$ |

#### Korelacija

Urađena je komparativna analiza<sup>4</sup> između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzoraka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

$r = 0,9979$

$y = 0,9997 x - 0,001$

#### LITERATURA

1. P.Gosling, Analytical reviews in clinical biochemistry: Calcium Measurements. Ann Clin Biochem, 23,146, 1986.
2. B. Štraus, Medicinska biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
4. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.



Bioanalytica d.o.o.  
Agostina Neta 84/2, Beograd,  
Srbija  
[www.bioanalytica.rs](http://www.bioanalytica.rs)



Bioscience Medical SL  
Velazquez 126, 7AB,  
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : \_\_\_\_\_