



Набор реагентов для определения УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Кат. № : C525
Производитель: Teco Diagnostics (США)

Методика от 12-2001

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Для ручного или автоматизированного количественного определения содержания углекислого газа в плазме или сыворотке человека при 340 нм.

ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Фосфоэнола пируват + HCO₃⁻ PEPC > Оксалат + H₂PO₄

Оксалат + NADH MDH > Малат + NAD

Фосфоэнол пируват карбоксилаза (PEPC) катализирует реакцию между фосфоэнолом пирувата и углекислым газом (бикарбонатом), образуя ион оксалат и фосфата. Оксалат сокращается до малата с одновременным окислением эквивалентного количества сокращенного аденин никотинамид динуклеотида (NADH) в NAD; реакция катализируется дегидрогеназой малата (MDH). Это приводит к уменьшению спектральной поглощательной способности при 340 нм, которая непосредственно пропорциональна концентрации CO₂ в образце.

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

При соответствующем перерастворении, реагент CO₂ содержит следующее: PEP 1.8 мМ, сульфат магния 10 мМ, NADH 0.40 мМ, MDH (свиной) 1,250 Е/л, PEPC (микробный) 200 Е/л, оксамат натрия 2.5 мМ, буфер, (рН 7.0), неактивные наполнители и стабилизаторы с азидом натрия 0.1% в качестве консерванта.
2. Стандарт CO₂ содержит 30 ммоль/л бикарбоната натрия в водном растворе.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностического использования *in vitro*.
2. При обращении с лабораторными реагентами необходимо соблюдать обычные предосторожности.
3. Реагент CO₂ содержит азид натрия, который токсичен при приеме вовнутрь, и который может реагировать с трубопроводами из свинца и меди, образуя легко взрывчатые азиды металлов. При уничтожении, смойте большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление азидов.
4. Для перерастворения используйте только CO₂ без воды.
5. Не пипетируйте ртом, чтобы избежать загрязнения CO₂ выдыхаемым воздухом.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Перерастворите реагент CO₂ частью CO₂-без воды, указанную на этикетке флакона. Смешайте, перевернув 5-6 раз. Не встряхивать. Стандарт CO₂ готов к использованию.

Примечание: Избегайте загрязнения реагентов CO₂. Не дуйте в пипетку, так как дышаемый воздух содержит высокую концентрацию CO₂. Не позволяйте чтобы бутылки открывались лишней раз, так как CO₂ воздуха может загрязнить реагент. Храните контейнер плотно закрытым.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните не вскрытый флакон реагента CO₂ и стандарта CO₂ охлажденным (2 - 8°C). Реагент и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетках.
2. Ресуспендированные реагенты, хранящиеся в плотно закупоренной бутылке стабильны в течение 1 дня при комнатной температуре (18 - 26°C) и 7 дней в охлажденном виде (2 - 8°C).

УХУДШЕНИЕ РЕАГЕНТА

Не используйте реагент если спектральная поглощательная способность CO₂ при измерении в сравнении с водой и световой дорожке 1 см, составляет меньше чем 1.000 при 340 нм, или если в сухом реагенте наблюдается слипание из-за возможного проникновения влажности, или если он не полностью растворяется.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Рекомендуется, чтобы сбор образцов для анализа проводился в соответствии с документом NCCLS M29-T.
2. Могут анализироваться сыворотка или гепаринизированная плазма. Идеально, венозная кровь должна быть собрана и обработана анаэробно.
3. Плазма и сыворотка, после быстрого отделения от клеток или сгустка, должна храниться плотно закупоренной.
4. Содержимое CO₂ в крови стабильно в течение 1 часа если хранить при 2-4°C в анаэробных условиях. Подщелоченная сыворотка может стоять целых 4 часа в открытых емкостях без потери CO₂.

ВЛИЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Основное воздействие в этом анализе - CO₂ из воздуха или выдыхаемого воздуха лаборанта. Известно, что определенные препараты и другие вещества также влияют на уровни CO₂.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Реагент углекислого газа и стандарт углекислого газа.

ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Спектрофотометр, способный к точному измерению спектральных поглощательных способностей при 340 нм; Кюветки с оптическими свойствами, подходящими для использования при 340 нм; Пипетирующие устройства для точного внесения объемов, требуемых для этого анализа; Таймер; Инкубатор или водяная баня, способная к поддержанию 37°C.

ПРОЦЕДУРА

1. Препарируйте реагент CO₂ согласно разделу ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА.
2. Пометьте пробирки "Бланк", "Стандарт", "Контроли", "Пациенты", и т.д.
3. Пипетируйте 1.0 мл реагента углекислого газа в каждую пробирку.
4. Инкубируйте все пробирки в течение 3 минут при 37°C.
5. Настройте длину волны спектрофотометра на 340 нм, температуру до 37°C.
6. Пипетируйте 5 мкл (0.005 мл) воды, стандарта, и образца в кюветы, маркированные "Бланк", "Стандарт" и "Пациенты", соответственно.
7. Осторожно смешайте вращением и инкубируйте в течение 5 минут.
8. Считайте и зафиксируйте спектральную поглощательную способность (Abs) всех кюветок при 340 нм.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Если образцы липемические, иктерические или гемолизированные, приготовьте образец бланка, добавив 5 мкл образца к 1.0 мл солевого раствора. Спектральная поглощательная способность этого бланка вычитается из спектральной поглощательной способности соответствующего анализа и тогда исправленная спектральная поглощательная способность используется в вычислениях.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Целостность реакции должна быть проверена при помощи нормального и патологического контролей с известными значениями CO₂ для каждого анализа.

КАЛИБРОВКА

Предоставленный стандарт CO₂ стандартизирован для использования в вычислении ручной процедуры. Концентрация CO₂ должна быть утверждена сравнением с коммерчески доступным стандартом. Для автоматизированного аппарата см. соответствующие данные аппликации.

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Определите содержимое CO₂ в образце следующим образом:

$$\text{Содержимое CO}_2 \text{ в образце (ммоль/л)} = \frac{\text{Abs. бланка} - \text{Abs. образца}}{\text{Abs. blank} - \text{Abs. standard}} \times \text{концентрация стандарта}$$

Пример:

$$\begin{aligned} \text{Abs. образца} &= 0.95 \\ \text{Abs. стандарта} &= 0.82 \\ \text{Abs. бланка} &= 1.66 \end{aligned}$$

Концентрация стандарта = 30 ммоль/л

$$\begin{aligned} \text{CO}_2 \text{ (ммоль/л)} &= \frac{1.66 - 0.95}{1.66 - 0.82} \times 30 \\ &= 25.4 \text{ ммоль/л} \end{aligned}$$

ПРОЦЕДУРНЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

Реагент CO₂ линеен до 40 ммоль/л. Если содержимое CO₂ более 40 ммоль/л, разбавьте образец равным объемом CO₂ без изотонического солевого раствора и повторно проанализируйте. Умножьте результат на 2, чтобы компенсировать разбавление. Липемический, иктерический или гемолизованный образец будет влиять на результат. Необходимо препарировать бланк образца. По подготовке бланка образца, пожалуйста, обратитесь к разделу ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

23-34 ммоль/л.

Настоятельно рекомендуется, чтобы каждая лаборатория установила ожидаемый диапазон для местного населения.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. **Линейность:** 0-40 ммоль/л.

2. **Чувствительность:** основывается на разрешении Abs. аппарата = 0.001, эта процедура имеет чувствительность 0.03 ммоль/л.

3. **Сравнение:**

Ручная процедура: анализировались 40 серологических образцов с диапазоном CO₂ от 7.0-30.4 ммоль/л. Исследование в сравнении с аналогичным методом выдало коэффициент корреляции 0.987 и уравнение линейной регрессии $y = 1.02x - 0.42$.

Автоматизированная процедура: анализировались 70 серологических образцов с диапазоном CO₂ от 0,7-29,7 ммоль/л. Исследование в сравнении с аналогичным методом выдало коэффициент корреляции 0.99 и уравнение линейной регрессии $y = 1.03x - 0.69$.

4. **Точность:** следующие исследования были выполнены согласно Директиве NCCLS №EP5-T. Каждый контроль был подвергнут 20 копированиям для каждого исследования.

| В пределах процедуры | Контроль | Среднее значение (ммоль/л) | СО (ммоль/л) | КВ (%) |
|----------------------|----------|----------------------------|--------------|--------|
| Ручная процедура | I | 34.0 | 0.6 | 1.8 |
| | II | 16 | 0.7 | 4.1 |
| Автомат. процедура | III | 23.13 | 0.50 | 2.2 |
| | IV | 15.67 | 0.47 | 3.0 |

| Между процедурами | Контроль | Среднее значение (ммоль/л) | СО (ммоль/л) | КВ (%) |
|--------------------|----------|----------------------------|--------------|--------|
| Ручная процедура | I | 33.4 | 1.4 | 4.3 |
| | II | 15.7 | 0.7 | 4.4 |
| Автомат. процедура | III | 23.29 | 2.00 | 8.6 |
| | IV | 14.79 | 1.60 | 10.8 |

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com