

Determinazione del Calcio nel siero, plasma o urine. Metodo colorimetrico (Arsenazo III).

REF CC1052 R1: 4x60 mL + R2:1x3 mL (standard)

PRINCIPIO DEL METODO

Con Arsenazo III ed a pH neutro, il Calcio produce un complesso di colore blu, la cui assorbanza ottica, proporzionale alla concentrazione di calcio nel campione, è misurabile fotometricamente a 600 nm. L'uso di un calibratore a titolo noto consente di calcolare la concentrazione in campioni incogniti.

SIGNIFICATO CLINICO

Nel sangue il Calcio è presente in tre forme: ionizzato (13%), complessato a varie sostanze (47%) e legato all'albumina (40%). Una diminuzione del Calcio totale può essere dovuta a ipo-proteidemia ma in questo caso la quota ionizzata (la parte attiva fisiologicamente) rimane normale. Per questo motivo ogni dosaggio di Calcio dovrebbe essere accompagnato da un dosaggio delle proteine plasmatiche. Una diminuzione dei valori si riscontra nell'ipo-paratiroidismo, in patologie renali, ed in ipo-proteidemie. Valori più elevati si registrano nell'iper-paratiroidismo, durante la terapia con vitamina D e nella sarcoidosi. I valori ematici del Calcio sono inversamente proporzionali a quelli dei fosfati per cui quando incrementa il calcio, diminuiscono i fosfati e viceversa. L'escrezione urinaria è proporzionale ai livelli ematici, essa aumenta nella acidosi metabolica, nella insufficienza renale, nel mieloma multiplo, nei tumori ossei.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente (R1)

Tampone Imidazolo, pH 6.5	70 mmol/L
Arsenazo III	120 µmol/L
Detergenti	≥ 2 %
Sodio Azide	0.95 g/dL

Reagente (R2)

Standard (Calcio)	Valore riportato in etichetta
-------------------	-------------------------------

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta. Non congelare i reagenti. Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero, plasma da eparina, urine. Non usare plasma da EDTA.

Le Urine delle 24h devono essere acidificate con 10 mL di Acido Cloridrico concentrato. Le urine del mattino vanno acidificate con alcune gocce di Acido Cloridrico concentrato. Il campione di urine deve essere diluito 1:2 (1+1) con acqua distillata.

Stabilità nel siero:

Separare il siero dal coagulo nel più breve tempo possibile
1 settimana a 15° - 25 °C; 3 settimane a 2° - 8 °C; 3 mesi at -20°C.

Stabilità nelle urine:

2 giorni a 15° - 25 °C; 4 giorni a 2° - 8 °C; 3 settimane at -20°C

Eliminare i campioni contaminati.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	650 nm (630 - 700 nm)
Temperatura:	37 °C
Misura:	contro Bianco Reagente

Pipettare come segue:

Reagente R1	1000 µL
Campione, Std / Cal	10 µL

Miscelare, incubare 5' a t.a. e leggere l'Assorbanza entro 60'.

CALCOLO

Siero o Plasma

$$\text{Calcio} = \frac{\text{Abs Campione}}{\text{Abs Std/Cal}} \times \text{Concentrazione Std/Cal}$$

Urine

Calcolare come per il siero/plasma e moltiplicare il risultato per 2 (diluizione iniziale del campione).

Calcio (mg/24 h) = Calciuria in mg/dL x Volume urine (espresso in dL)

Calcio (mmol/24 h) = Calciuria in mmol/L x Volume urine (espresso in L)

Fattore di conversione: mg/dL x 0,2495 = mmol/L

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa allo standard chimico presente nella confezione, è possibile usare il Calibratore di **MTD Diagnostics**:

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Siero, Plasma

Neonati	8,0 – 13,0 mg/dL
Bambini	8,5 – 12,0 mg/dL
Adulti	8,5 – 10,5 mg/dL

Urine:

Donne	< 250 mg/ 24h
Uomini	< 300 mg/ 24h

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 8,79; D.S. = 0,09; CV = 1,02%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 14,0; D.S. = 0,24; CV = 1,71%

ACCURATEZZA: Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y=1,02x-0,20 \text{ con } r=0,999$$

SENSIBILITA': 0,10 mg/dL

LINEARITA': 0,10 - 20 mg/dL

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza è stata osservata con Acido Ascorbico fino a 30 mg/dL, Bilirubina fino a 40 mg/dL, Emoglobina fino a 500 mg/dL, Lipemia fino a 2.000 mg/dL di Trigliceridi e Magnesio fino a 15 mg/dL.

NOTE

- Poiché il calcio è uno ione ubiquitario, è necessario adottare precauzioni essenziali contro la contaminazione accidentale. Utilizzare solo materiali monouso.
- Le tracce di agente chelante, come l'EDTA, possono impedire la formazione del complesso colorato.
- Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere convalidata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di convalidare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.
- La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

PRECAUZIONI

R1 contiene ARSENAZO III – 80 µmol/L - CAS N.: 1668-00-4
N – T R23/25 (H331 – H301) - R50 (P410) – R53 (P413)

R23/25 (H331 – H301): Tossico per inalazione e ingestione.

R50 (H400): Altamente tossico per gli organismi acquatici.

R53 (H413): Può provocare effetti negativi a lungo termine per l'ambiente acquatico

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni

sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Bauer PJ. Affinity and stoichiometry of calcium binding by arsenazo III. Anal Biochem 1981;110:61-72.

Endres DB, Rude RK. Mineral and bone metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1395-1457.

Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal ChimActa 1971;53:194-8.

Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 192-202.