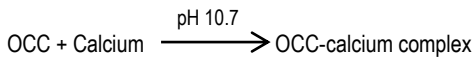


Determinazione Quantitativa del Calcio in Siero, Plasma o Urine . Metodo Colorimetrico (OCP O-CresolPhthalein).

REF **CC1060** R1: 3x80 mL + R2:1x60 mL + R3: 1x3 mL (standard)

PRINCIPIO DEL METODO

Test fotometrico che utilizza la cresolfaleina complexone (CPC).



La cresolfaleina complexone reagisce con gli ioni calcio a PH alcalino formando un colore rosso-violetto. L'interferenza del magnesio viene eliminata mediante l'aggiunta di 8-idrossichinolina.

SIGNIFICATO CLINICO

Il calcio esiste nel sangue in tre forme: ionizzato (13%), complessato (47%) e legato alle proteine, principalmente all'albumina (40%). Quando vengono eseguite le determinazioni del calcio, la concentrazione di calcio totale viene determinata indipendentemente dalla quantità di calcio presente in ciascuna forma. Una ridotta concentrazione di calcio totale può essere dovuta a ipoproteinemia, ma la concentrazione di calcio fisiologicamente attivo (ionizzato) in questo caso può essere normale. Per questo motivo, una determinazione delle proteine dovrebbe accompagnare ogni analisi del calcio in modo che il valore del calcio possa essere interpretato correttamente. I bassi livelli sierici di calcio di solito accompagnano l'ipoparatiroidismo, alcune malattie ossee, alcune malattie renali e bassi livelli di proteine. Livelli sierici elevati di calcio si verificano nell'iperparatiroidismo, avvelenamento da vitamina D e sarcoidosi. Il livello plasmatico di calcio è fortemente influenzato dal livello plasmatico di fosfato inorganico. Nella maggior parte dei casi, esiste una relazione inversa tra calcio e fosfato inorganico. Le condizioni associate all'ipercalcemia, come l'iperparatiroidismo primario, sono solitamente associate all'ipofosfatemia; è vero anche il contrario. L'escrezione urinaria di calcio è parallela al livello di calcio sierico. Grandi quantità di calcio vengono escrete nelle urine in caso di iperparatiroidismo, acidosi metabolica, insufficienza tubulare renale, mieloma multiplo e neoplasie ossee.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente (R1)

Ethanolamine, pH 10.7 600 mmol/L
Detergents < 1 %

Reagente (R2)

2-Cresolphthalein complexone 0.06 mmol/L
8-Hydroxyquinoline 7 mmol/L
Hydrochloric acid, pH 1.1 20 mmol/L

Reagent (R3)

Standard: Vedi valori nella tabella

PREPARAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza, se conservati tra +15° e +25° C, protetti dalla luce e dalle contaminazioni. 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.

Substrate Start: Reagenti pronto all'uso

Sample Start:

Mix 4 parti di R1 + 1 parte di R2

(Es. 20 mL R1 + 5 mL R2) = Soluzione di Lavoro

Stabilità: 5 ore tra +15 e +25°C

La miscela di lavoro deve essere protetta dalla luce.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati.

CAMPIONI

Siero plasma eparinato o urine. Non usare plasma

Stabilità nel siero, plasma:

7 giorni a 20° - 25 °C, 3 settimane a 4° - 8 °C, 8 mesi a - 20 °C

Stabilità nelle urine:

2 giorni a 20° - 25 °C, 4 giorni a 4° - 8 °C, 3 settimane a - 20 °C

Aggiungere 10 mL di HCl concentrato all'urina delle 24 ore e riscaldare il campione per sciogliere l'ossalato di calcio. Eliminare i campioni contaminati.

Diluire il campione di urina 1: 2 (1 + 1) con acqua distillata.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 570 (550 -590 nm)

Temperatura: 37 °C

Misura: contro Bianco Reagente

Nota: per la misurazione di campioni fortemente colorati o fortemente lipemici utilizzare substrate start.

Procedura con Campione Start:

Soluzione di Lavoro 1000 µL

Campione, Std / Cal 20 µL

Miscelare e leggere l'assorbanza (Abs) dopo 5 minuti contro Bianco Reagente.

Procedura con Substrato Start:

Reagente (R1) 800 µL

Campione, Std / Cal 20 µL

Miscelare e leggere l'assorbanza (Abs) dopo 5 minuti, aggiungere::

Reagente (R2) 200 µL

Miscelare e leggere l'assorbanza (Abs) dopo 5 minuti

Abs = (Abs₂ - Abs₁) Campione o Standard

CALCOLO

$$\text{Calcio [mg/dL]} = \frac{\text{Abs Campione}}{\text{Abs Std / Cal}} \times \text{Conc. Std / Cal [mg/dL]}$$

Urine:

$$\text{Calcio Urinario} = \frac{\text{Abs Campione}}{\text{Abs Std / Cal}} \times \text{Conc. Std/Cal} \times 2 \text{ (dilution factor)}$$

$$\text{Calcio [mg/24h]} = \text{Calcio Urinario} \times \text{Urine Volume 24 h (dL)}$$

$$\text{Fattore di conversione: Calcio [mg/dL]} \times 0.2495 = \text{Calcio [mmol/L]}$$

CALIBRAZIONE CON CALIBRATORE

Usare **MTD Diagnostics Chemistry Calibrator**

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL)

CONTROLLO DI 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 10 x 5 mL (Level 1)
Chemistry Control P - REF CNP1020 10 x 5 mL (Level 2)

VALORI ATTESI

Siero Plasma:

8.6 - 10.3 mg/dL

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/24 h
 Uomini < 300 mg/24 h

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.

PERFORMANCE

Precisione

Intra-assay precision n = 20	Mean [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Sample 1	7.81	0.11	1.45
Sample 2	9.04	0.06	0.62
Sample 3	13.4	0.19	1.38

Inter-assay precision n = 20	Mean [mg/dL]	SD [mg/dL]	CV [%]
Sample 1	7.76	0.13	1.66
Sample 2	8.87	0.22	2.48
Sample 3	13.3	0.36	2.70

Accuratezza (Correlazione)

Una comparazione tra **MTD Diagnostics** Calcium OCP LS 4+1 (y) e un altro test commerciale (x) ha dato i seguenti risultati:

$$y = 0.98x + 0.11 \quad r = 0.999$$

Le performance analitiche sono state generate usando strumenti automatici. I risultati possono variare a seconda dello strumento..

Linearità: 0.20 - 20 mg/dL.

Sensibilità: 0.2 mg/dL.

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza osservata con presenza nei campioni di Acido Ascorbico fino a 30 mg/dL, Bilirubina fino a 40 mg/dL, Lipemia fino a 2000 mg/dL Trigliceridi, Emoglobina fino a 500 mg/dL, e Magnesio fino a 15 mg/dL

NOTE

- Poiché il calcio è uno ione onnipresente, è necessario prendere precauzioni essenziali contro la contaminazione accidentale. Utilizzare solo materiali monouso.
- Tracce di agenti chelanti, come l'EDTA, possono impedire la formazione del complesso colorato.
- Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione su uno strumento dovrebbe essere validata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di validare periodicamente lo strumento. Contatta il tuo distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.
- La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sulla base dei risultati di un singolo test, ma dovrebbe integrare i dati clinici e di laboratorio.

PRECAUZIONI

R1 contiene ETHANOLAMINE pH 10,7 – 600 mmol/L - CAS N.: 141-43-5 - C R34 (H314) – Xn R20/21/22 (H332 – H302 – H313).

R2 contiene 8-HYDROXYCHINOLINE - 7 mmol/L - CAS N.: 148-24-3 - Xn R22 (H302).

R2 contiene HYDROCHLORIC ACID pH 1.1 – 20 mmol/L - CAS N.: 7647-01-0 - C R35 (H314) T R23 (H331).

R20/21/22 (H332 – H302 – H313): Nocivo per inalazione, contatto con la pelle e per ingestione.

R22 (H302): Nocivo se ingerito.

R23 (H331): Tossico per inalazione.

R34 (H314): Provoca ustioni.

R35 (H314): Provoca gravi ustioni.

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 allorché 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.

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

SIMBOLOGY

CE	CE Mark (EC Directive 98/79)		
	In Vitro Diagnostic		Temperature Limitation
	Consult instructions for use		Contains sufficient for <n> test
	Catalog Number		Use By
	Batch Code		Manufacturer

BIBLIOGRAPHY

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.