

Uso previsto

Determinazione quantitativa del calcio nel siero umano o in plasma eparinizzato utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. **Solo su prescrizione.**

Interesse clinico^{1,2}

Un aumento del calcio nel siero si osserva nell'iperparatiroidismo, nell'intossicazione da vitamina D, nel mieloma multiplo e in alcune patologie neoplastiche delle ossa. Una diminuzione del calcio nel siero si osserva nell'ipoparatiroidismo, nella carenza di vitamina D, nella steatorrea, nella nefrosi e nella nefrite.

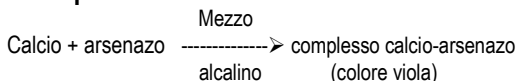
Storia del metodo diagnostico

Per la misurazione del calcio sono state sviluppate diverse metodologie, tra cui la fotometria a fiamma, procedure a fluorescenza, procedure gravimetriche e titrimetriche, elettrodi ionoselettivi e assorbimento atomico. Il metodo raccomandato come riferimento è l'assorbimento atomico, che però richiede una strumentazione costosa.³

Sono, invece, diventate molto diffuse le metodologie di legame con coloranti specifici, perché rapide, comode e poco costose. Sono state descritte procedure che utilizzano i coloranti alizarina 3-solfonato e blu metiltimolo.^{4,5} Nel 1966, Connerty e Biggs svilupparono un metodo che utilizzava il complesso di α -cresolfaleina come cromogeno; il metodo fu poi modificato da Gitelman nel 1967 e da Baginski, et al, nel 1973.^{6,7,8} Le procedure con il complesso di α -cresolfaleina hanno conosciuto un ampio utilizzo per la misurazione del calcio.

La procedura in oggetto utilizza l'arsenazo III ed è stata modificata per fornire un sistema di reagenti altamente sensibile e stabile. L'interferenza del magnesio viene evitata grazie alla presenza di 8-idrossichinolina solfonato. I reagenti vengono forniti sotto forma di liquido pronto all'uso.

Principio



In un mezzo leggermente alcalino, il calcio reagisce con l'arsenazo III formando un complesso di colore viola che assorbe a 650 nm. L'intensità del colore è proporzionale alla concentrazione di calcio.

Reagenti

Reagente per il calcio: Arsenazo III $\geq 0,15\text{mM}$, 8-idrossichinolina solfonato $5,0\text{mM}$, tampone, tensioattivo.

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono forniti pronti all'uso.

Conservazione dei reagenti

Conservare i reagenti a temperatura ambiente ($15-30^{\circ}\text{C}$). Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Deterioramento dei reagenti

Non utilizzare i reagenti se visibilmente torbidi.

Precauzioni

- Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
- Il reagente può essere irritante per la pelle. Evitare il contatto. In caso di contatto, sciacquare con abbondante acqua.

Raccolta e conservazione dei campioni

- Sono da preferirsi campioni di siero fresco, non emolizzato.
- Si può utilizzare anche plasma eparinizzato.
- Non utilizzare anticoagulanti diversi dall'eparina.⁹
- Rimuovere tempestivamente il siero dal coagulo, poiché i globuli rossi possono assorbire il calcio.¹⁰
- Non utilizzare campioni di siero vecchio, con precipitati visibili.^{11,12}
- Il calcio sierico resta stabile per 24 ore a temperatura ambiente, per una settimana a $2-8^{\circ}\text{C}$ e fino a cinque mesi se congelato ($-15 / -25^{\circ}\text{C}$) e protetto all'evaporazione.¹³ Non scongelare e poi ricongelare i campioni.

Interferenze

- Le sostanze che contengono o si complessano con il calcio producono risultati imprecisi.¹⁴
- Le provette in vetro spesso sono ricoperte da uno strato contenente calcio. Prima dell'uso è necessario lavarle con dell'acido. In alternativa, utilizzare provette in plastica.
- La bilirubina fino a 20mg/dl e l'emoglobina fino a 500mg/dl non causano interferenze.
- Una grave lipemia può produrre risultati più elevati. Per garantire la massima accuratezza, analizzare un bianco.
- Per una rassegna completa delle interferenze si rimanda a Young, et al.¹⁵

Materiali in dotazione

Reagente per calcio

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Calibratore chimico, numero di catalogo C7506-50
- Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	CA	Sostanza chim.:	Calcio
N. chim:	209	Nome etichetta:	CA
Tipo reazione:	Endpoint	Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	670 nm	Lungh. d'onda sec.	
Decimale:	0,1	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	7 8
Unità:	mg/dl	T. incubazione:	0

	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	3	ul	ul	R1: 250	ul
Decremento:		ul	ul		ul
Incremento:		ul	ul		ul

Intervallo linearità (standard): 0-15	Limite linearità:	
Intervallo linearità (decremento):	Esaurim. substrato:	
Intervallo linearità (incremento):	Assorb. bianco mix:	- 40000 40000
Assorb. bianco R1:	Stabilità in macchina:	30 Giorni
Risposta bianco	Limite allarme reagente:	5
Doppia chim.:		

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	
Intervallo:	Val. fuori norma:

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	mg/dL	

Tratt. preliminare:	
Vol. campione pretratt.:	Vol. reagente pretratt.:
ul	ul

Intervallo rif.:					
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:

Kit reagenti Calcio Arsenazo III Pointe

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.					
CA					
Impostazioni calibr.					
Modello mat.:	Lineare a 2 punti	Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
Fattore:	Repliche: 2	acqua	0,0	W	
Limiti accettabilità		Cal. chim.	*	*	
T. calibr.:	336 h				
Diff. pendenza:	DS:				
Sensibilità:	Ripetibilità:				*Def. utente
Coeff. deter.:					
Calibr. autom.					
	T. calibr.				

Limitazioni

I campioni con valori di calcio superiori a 15 mg/dl¹⁶ vanno diluiti con pari volume di soluzione fisiologica, il test va ripetuto e il risultato moltiplicato per due. Per garantire la massima accuratezza, i campioni fortemente lipemici vanno analizzati con un bianco.

Calibrazione

Utilizzare un calibratore per siero con tracciabilità NIST. La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, sarà necessario effettuare una ricalibrazione.

Calcolo (esempio)

Assorbanza camp. x conc. stand. = Calcio (mg/dl)
Assorbanza stand.

Esempio: Se l'assorbanza del campione = 0,81, l'assorbanza dello standard = 0,80, la concentrazione dello standard = 10mg/dl, allora:

$$\frac{0,81}{0,80} \times 10 = 10,1 \text{ mg/dl}$$

NOTA: Per trasformare mg/dl in mEq/L, dividere per 2 il valore in mg/dl.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti di calcio. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano analisi del calcio. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Valori attesi

Adulti: 8,5-10,4 mg/dl¹⁷

Neonati: 7,8-11,2 mg/dl¹⁸

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

Prestazioni

- Linearietà: 0-15 mg/dl¹⁶
- Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. Si è ottenuto un coefficiente di correlazione di 0,994 e un'equazione di regressione $y = 0,99x + 0,18$ (n=36).
- Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando un analizzatore Yumizen serie 200.¹⁹

Intra saggio

Media	D.S.	C.V.%
9,91	0,48	4,8
12,12	0,57	4,7

Inter-giornaliera

Media	D.S.	C.V.%
8,96	0,19	2,12
11,14	0,26	2,33

- Sensibilità: studi sul rilevamento hanno evidenziato che il reagente è in grado di distinguere concentrazioni di calcio di 0,1 mg/dl in tutto l'intervallo lineare di analisi.¹⁰

Riferimenti bibliografici

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 149 (1984).
- Henry, J.B., Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 149 (1984).
- Cali, J.P., et al, N.B.S., Sp. Publication 260:36 (1972).
- Connerty, H.V. and Biggs, A.R., Am. J. Clin. Chem. 11:716 (1965).
- Gindler, E.M. and King, J.D., Am. J. Clin. Path. 58:376 (1972).
- Connerty, H.V. and Biggs, A.R., Am. J. Clin. Path. 45:290 (1966).
- Gitelman, H.J., Anal. Biochem. 18:521 (1967).
- Baginski, E.S., et al, Clin. Chem. Acta 46:49 (1973).
- Richterich, R., Clinical Chemistry: Theory and Practice, New York, Academic Press, p. 304 (1969).
- Peters, J.P., Van Slyke, D.D., Quantitative Clinical Chemistry – Vol. 2, Baltimore, Williams and Wilkins, (1932).
- Chen, P.S., et al, Anal. Chem. 26:1967 (1954).
- Tayeau, F., et al, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 95:206 (1956).
- Henry, R.J., et al, Clinical Chemistry: Principles and Technics, Hagerstown (MD), Harper and Row, p. 669 (1974).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 903-904 (1984).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- HORIBA Medical records.
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 1208 (1984).
- Meites, Samuel, Pediatric Clinical Chemistry, Washington DC, AACC Press, p. 81 (1989).
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	F Fabbricante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	L Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
CE Marchio CE	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

REF 12-C7529-120 Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188 **IVD**

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Rappresentante autorizzato per l'Europa:

Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53
1030 Bruxelles, BELGIO

tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.