

Usò previsto

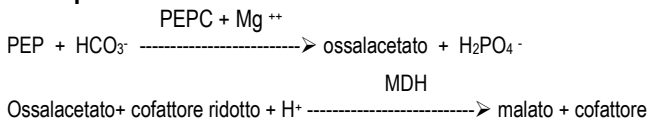
Determinazione quantitativa dell'anidride carbonica nel siero utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

Storia del metodo diagnostico

I primi metodi per la determinazione dell'anidride carbonica si basavano sulla misurazione volumetrica o manometrica della CO₂ rilasciata da un campione mediante trattamento acido. Per questi metodi venivano utilizzati gli strumenti di Van Slyke^{1,2} almeno fino a quando furono sostituiti con il microgasometro di Natelson³, strumento ancora in uso per la misurazione manometrica della CO₂ totale.

Sono stati messi a punto anche dei metodi per analizzatori automatizzati⁴ ma presentano problemi di deriva dal basale⁵ e richiedono particolari attrezzature, non disponibili in molti laboratori. I metodi enzimatici per la misurazione della CO₂ sono stati introdotti da Wilson⁶, Menon⁷ e Norris⁸ utilizzando la fosfoenolpiruvato carbossilasi. La presente procedura è un test enzimatico che utilizza la fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC) e un analogo del NADH.

Principio



L'anidride carbonica (sotto forma di ioni bicarbonato) in presenza della fosfoenolpiruvato carbossilasi (PEPC) reagisce con il fosfoenolpiruvato (PEP), andando a formare ossalacetato. Il cofattore, in presenza della malato deidrogenasi (MDH), viene ossidato dall'ossalacetato. La diminuzione dell'assorbanza monitorata tra 405 e 415 nm è proporzionale alla quantità di CO₂ presente nel campione.

Interesse clinico⁵

La misurazione dell'anidride carbonica è utile per valutazione dei disturbi dell'equilibrio acido-base. Valori elevati di CO₂ si osservano nell'acidosi metabolica e nell'acidosi respiratoria compensata. Valori bassi di CO₂ si osservano nell'alcalosi respiratoria compensata e nell'acidosi metabolica. Per la differenziazione tra condizioni metaboliche e respiratorie sono necessari ulteriori esami di laboratorio.

Reagenti

Reagenti per CO₂: PEP 6mM, ioni di magnesio 10mM, analogo del NADH, MDH (suina) ≥ 1200U/L, PEPC (microbica) ≥ 200U/L, tampone, pH 7,4 ± 0,1 stabilizzatori non reattivi con tensioattivi e conservanti.

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti sotto forma di liquido pronto all'uso.

Conservazione dei reagenti

Se conservato ben chiuso a 2-8°C, il reagente resta stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone (15 mesi dalla data di produzione)

Deterioramento dei reagenti

- Il reagente deve apparire limpido e di colore giallo chiaro.
- Non utilizzare se il reagente appare torbido: ciò indica che è deteriorato.

Precauzioni

- Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
- Non ingerire. La tossicità non è ancora stata accertata.
- Non pipettare per bocca, per evitare di contaminare la CO₂ sierica con l'aria espirata.

Raccolta e conservazione dei campioni

- Si raccomanda di prelevare siero fresco e non emolizzato in condizioni anaerobiche.
- Il campione può essere conservato in acqua ghiacciata in condizioni anaerobiche per un'ora al massimo.⁹

Interferenze

- Sono state esaminate le possibili interferenze per l'utilizzo di questo metodo di rilevazione dell'anidride carbonica con un analizzatore Hitachi 917. Non sono state osservate interferenze da bilirubina fino a 20,0 mg/dl, da emoglobina fino a 400 mg/dl e da lipemia (intraplipid) fino a 1000 mg/dl (applicando un criterio di variazione >10% rispetto al controllo. Il livello di CO₂ è risultato di 19mmol/L).

- Un'interferenza importante per questo test è rappresentata dalla CO₂ presente nell'aria ambiente o nell'aria espirata dall'operatore. Per ridurre al minimo questa interferenza è necessario attenersi rigorosamente alle istruzioni per la manipolazione dei reagenti, la raccolta dei campioni e la rispettiva conservazione.
- Sono state segnalate diverse condizioni e sostanze che influenzano i livelli di anidride carbonica sierica.^{10,11,12}

Materiali in dotazione

Reagente per anidride carbonica

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:	CO ₂	Sostanza chim.:	Anidride carbonica
N. chim.:	208	Nome etichetta:	CO ₂
Tipo reazione:	tempo fisso	Direzione reazione:	negativa
Lungh. d'onda prim.:	405 nm	Lungh. d'onda sec.:	510nm
Decimale:	0	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	2 15
Unità:	mEq/L	T. incubazione:	0

	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	2	ul	ul	R1: 200	ul
Decremento:;		ul	ul		ul
Incremento:		ul	ul		ul

Intervallo linearità (standard):	2-40	Limite linearità:	
Intervallo linearità (decremento):		Esaurim. substrato:	
Intervallo linearità (incremento):		Assorb. bianco mix:	- 40000 40000
Assorb. bianco R1:	- 40000 40000	Stabilità in macchina:	Giorni
Risposta bianco	- 40000 40000	Limite allarme reagente:	3
Doppia chim.:			

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

Risultato qualitativo:	Intervallo:	Val. fuori norma:
------------------------	-------------	-------------------

Pendenza Offset:	Pendenza	Offset	Unità
	1	0	mEq/L

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

Intervallo rif.:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:
------------------	--------	-----------------	------------------	---------------------	--------

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.	CO ₂	<table border="1"> <tr> <th>Calibratore</th> <th>Conc.</th> <th>Pos.</th> <th>N. lotto:</th> </tr> <tr> <td>acqua</td> <td>0,0</td> <td>W</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Cal. chim.</td> <td>*</td> <td>*</td> <td></td> </tr> </table>				Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:	acqua	0,0	W		Cal. chim.	*	*	
Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:														
acqua	0,0	W															
Cal. chim.	*	*															
Impostazioni calibr.																	
Modello mat.:	Lineare a 2 punti																
Fattore:	Repliche: 2																
Limiti accettabilità																	
T. calibr.:	24 h																
Diff. pendenza:	DS:																
Sensibilità:	Ripetibilità:	*Def. utente															
Coeff. deter.:																	
Calibr. autom.	T. calibr.																

Kit reagenti Anidride carbonica Pointe

Limitazioni

1. I campioni superiori a 40 mmol/L andrebbero diluiti 1:1 con soluzione fisiologica, nuovamente analizzati e i risultati andrebbero moltiplicati per 2.
2. È necessario evitare la contaminazione da anidride carbonica. Tenere il reagente ben chiuso quando non è in uso.

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)

$Abs. campione \times C_{st} = \text{Anidride carbonica}$

Abs. standard:

con C_{st} = valore standard in mmol/L

Calcolo campione:

Se Abs. standard = 0,250, Abs. campione = 0,225 e concentrazione standard = 30 mmol/L allora:

$$\frac{0,225}{0,250} \times 30 \text{ mmol/L} = 27 \text{ mmol/L}$$

Controllo qualità

Per monitorare l'affidabilità dei risultati, insieme ai campioni dei pazienti è necessario analizzare due serie di controlli sierici con valori noti di anidride carbonica. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o ai requisiti di accreditamento.

Valori attesi⁹

23-34 mmol/L

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

Prestazioni

1. Intervallo di analisi: 2 - 40 mmol/L
2. Limite inferiore di rilevabilità: 2 mmol/L
3. 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 0,982 e un'equazione di regressione lineare $y = 0,934x + 1,7$ ($n=35$).
4. Precisione: La precisione intra-giornaliera è stata calcolata analizzando 2 campioni per 20 repliche nell'arco della stessa giornata. I risultati inter-giornalieri sono stati raccolti eseguendo un'analisi al giorno per un periodo di 20 giorni. Gli studi sulla precisione sono stati eseguiti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando un analizzatore Yumizen serie 200.¹³

Intra-giorn. (n=20)			Inter-giorn. (n=20)		
Media	D.S.	C.V.%	Media	D.S.	C.V.%
14,1	0,2	1,6	14,6	0,6	4,1
22,4	0,5	2,2	21,4	0,9	4,2

Riferimenti bibliografici

1. Van Slyke, D.D. and Stadie, W.C., J. Biol. Chem. 49:1 (1921).
2. Van Slyke, D.D. and Neil, J.M., J. Biol. Chem. 61:523 (1924).
3. Natelson, S., Microtechniques of Clinical Chemistry, C. Thomas, Springfield, IL. P.147 (1961).
4. Skeggs, L.T. Jr., Am. J. Clin. Path. 33:181 (1960).
5. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, PA., pp 884-887 (1982).
6. Wilson, W., et al, Clin. Chem. 19:640 (1973).
7. Menson, R.C., et al, Clin. Chem. 20:872 (1974).
8. Norris, K.A., et al, Clin. Chem. 21:1093 (1975).
9. Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, Harper & Row, New York, NY, p784 (1974).
10. Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).

11. Martin, E.W., In Hazard of Medication (Alexander, S.F., Farage, D.J., and Hassan, W.E., Jr. eds.), J.B. Lippincott Co., Philadelphia, PA., and Toronto, Canada, p. 169 (1971).
12. Constantino, N.V., and Kabat, H.F., Am. J. Hosp. Pharm. 30:24 (1973).
13. Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992)

Legenda

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

12-C7502-160 Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

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.