

Usò previsto

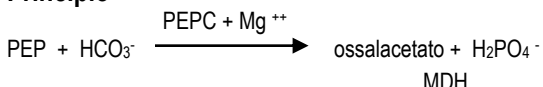
Determinazione quantitativa dell'anidride carbonica nel siero utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

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, Menson⁷ 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'assorbimento 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 una valutazione dei disturbi dell'equilibrio acido-base. Valori elevati di CO₂ si osservano nell'alcalosi 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 e stabilità 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

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

Precauzioni e pericoli

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

Pericoli:

Classificazione dei pericoli: Sostanza o miscela non pericolosa.

Icone: Non necessarie.

Parole segnale: Non necessarie.

Indicazioni di pericolo: Sostanza o miscela non pericolosa.

Consigli di prudenza: Sostanza o miscela non pericolosa

Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-C7502) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300

Raccolta e conservazione dei campioni

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

Interferenze

1. Sono state esaminate le possibili interferenze per l'utilizzo di questo metodo di rilevazione dell'anidride carbonica con analizzatore Yumizen C560. Non sono state osservate interferenze da bilirubina fino a 20,0 mg/dl, da emoglobina fino a 219,9 mg/dl e da lipemia (intralipid) fino a 1000 mg/dl (applicando un criterio di variazione >10% rispetto al controllo. Il livello di CO₂ è risultato rispettivamente di 26, 23 e 25 mmol/L).
2. 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.
3. Sono state segnalate diverse condizioni e sostanze che influenzano i livelli di anidride carbonica sierica.^{10,11,12}

Kit reagenti Anidride carbonica Pointe

Materiali in dotazione

Reagente per anidride carbonica

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatore Yumizen C560
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
3. Calibratore chimico, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

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, potrebbe essere necessario effettuare una ricalibrazione. Gli studi sulla stabilità della calibrazione condotti dal produttore mostrano che, in condizioni operative classiche, la curva di calibrazione resta stabile per almeno 1 giorno.

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 con i requisiti di accreditamento.

Valori attesi ⁹

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. Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	Anidride carbonica
N	97
CO ₂ media (mmol/L)	22,5
Intervallo (mmol/L)	4-39
Deviazione standard	6,4
Analisi di regressione	$y = 0,962x - 2,2$
Coefficiente di correlazione	0,9543

3. Precisione: La precisione intragiornaliera è stata calcolata analizzando 2 campioni per 20 repliche nell'arco della stessa giornata. I risultati intergiornalieri sono stati raccolti eseguendo un'analisi al giorno per un periodo di 20 giorni. Gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando l'analizzatore Yumizen C560.¹³

Campione	Intragiorn.		
	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20
Media	7,8	23,9	30,9
Deviazione standard	0,4	0,5	0,6
Coefficiente di variazione (%)	5,7%	2,1%	2,0%

Campione	Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA
N	40	40	40
Media	10,0	22,6	29,4
Deviazione standard	1,1	2,0	1,0
Coefficiente di variazione (%)	10,5%	8,7%	3,3%

4. Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 1mmol/L

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)

PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	CO2	N.	208	Tipo campione:	siero
Denominazione:	Anidride carbonica			Nome etichetta:	CO2
Tipo reazione:	T. fisso			Direzione reazione:	negativa
Lungh. d'onda prim.:	412			Lungh. d'onda sec.:	505
Unità:	mmol/L			Decimale	0
T. bianco:	10 12			T. reazione:	18 41
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	1.5 ul	--- ul	--- ul	R1:	150 ul --- ul
Decremento :	--- ul	--- ul	--- ul	R2:	--- ul -- ul
Incremento:	--- ul	--- ul	--- ul	R3:	--- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input checked="" type="checkbox"/> Ripetiz. automat.		R4:	--- ul --- ul
Regolazione pendenza/ Offset					
Pendenza: 1		Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	2	40	Limite linearità:	
Intervallo linearità (decremento)	---	---	Esaurim. substrato:	
Intervallo linearità (incremento)	---	---	Assorb bianco mix:	
Assorb bianco R1:	---	---	T. apertura	
Risp. bianco:	---	---	Limite allarme reag.:	
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi	
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

Kit reagenti Anidride carbonica Pointe

PARAMETRI DI CALIBRAZIONE

Definizione calibratore						
Calibratore:	*	N. lotto:			*	
Data di scadenza:	*					
Caricatore		Pos.				
Caricatore campioni 1		*				
Caricatore campioni 2						
Caricatore campioni 3						
<u>Reagente/calibrazione</u>						
<u>Calibratore</u>	<u>Pos.</u>	<u>N. lotto</u>	<u>Data scad.</u>	<u>Analisi</u>	<u>Conc.</u>	<u>Unità</u>
Acqua	W	*	*	CO2	0	mmol/L
Cal. chimico	*	*	*	CO2	*	mmol/L
<u>Configurazione calibrazione</u>						
Analisi chim.:	CO2					
<u>Impostazioni calibr.</u>						
Modello mat.:	lineare a 2 punti					
Fattore:	Repliche: 2					
<u>Limiti accettabilità</u>						
T. calibr.:	24	h				
Diff. pendenza:	---	DS:		---		
Sensibilità:	---	Ripetibilità:		---		
Coeff. deter.:	---					
<u>Calibr. autom.</u>						
<input type="checkbox"/> Cambio fiasco	<input type="checkbox"/> Cambio lotto	<input type="checkbox"/> Ora cal.				

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.
* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-C7502-160



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



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.

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



Legenda



Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)



Codice lotto e gruppo

REF N.



Fabbricante



Limitazioni di temperatura



Consultare il manuale di istruzioni