

Kit per la determinazione del calcio nel siero, plasma e urina Metodo colorimetrico o-cresolfaleina complexone CPC

PRINCIPIO

La o-cresolfaleina complexone (CPC) reagisce con gli ioni calcio e magnesio a pH alcalino formando un complesso fortemente colorato: l'interferenza da magnesio è inibita dalla presenza di 8-idrossichinolina. L'intensità del colore è direttamente proporzionale alla concentrazione del calcio presente nel campione esaminato.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Tampone AMP pH 10.3 330.0 mmol/l

R2 O-cresolfaleina complexone 0.16 mmol/l; 8-idrossichinolina 9.0 mmol/l

Standard calcio 10 mg/dl (2.50 mmol/l)

CAMPIONI

- Siero o plasma. Urina diluita 1:5.

Note

- Non utilizzare campioni emolizzati. Non utilizzare anticoagulanti come EDTA, ossalato, citrato o fluoruro.

- Evitare la stasi venosa. L'uso del laccio emostatico può aumentare il livello di calcio nel prelievo anche di 0.5 mg/dl (0.12 mmol/l).

- Una volta raccolti, siero e plasma devono essere separati al più presto dai globuli rossi per evitare l'assorbimento di calcio dagli eritrociti.

- Il calcio è stabile nel siero o plasma 1 giorno a 2-8°C o 8 mesi a -20°C.

- Sieri fortemente lterici o lipemici devono essere testati utilizzando un bianco campione.

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero Adulti	8.5 - 10.8 mg/dl
Siero Bambini	8.5 - 12 mg/dl
Urina	100 - 300 mg/24h

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 15-25°C. Non congelare i reattivi

- Dopo l'apertura, i flaconi **R1**, **R2** e **STD** sono stabili fino alla data di scadenza indicata se richiusi immediatamente dopo il prelievo, protetti da contaminazione, evaporazione, luce diretta e conservati alla temperatura corretta.

- Stabilità della soluzione di lavoro (**R1 + R2**): 6 ore a 15-25°C

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

I reattivi sono liquidi e pronti all'uso. Per l'utilizzo come monoreattivo (procedimento "campione starter") miscelare i reattivi **R1** e **R2** in parti uguali.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.

- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è > 0.500 a 570 nm.

- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.

- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.

- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm

REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.

È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

Attenzione: i reattivi contengono Sodio Azide (0.095%) come conservante. Evitare l'ingestione ed il contatto con pelle, occhi e mucose.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda λ : 570 (550-590) nm

Temperatura di lavoro 37°C (15-25°C)

Cammino ottico 1 cm

Tipo di reazione "end point" (in incremento)

- PROCEDIMENTO MONOREATTIVO "campione starter"

	BIANCO	STD	CAMPIONE
REATTIVO DI LAVORO	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l
ACQUA DISTILLATA	25 μ l	--	--
CAMPIONE	--	--	25 μ l
STANDARD	--	25 μ l	--

Agitare poi incubare 5 min. a 37°C (15-25°C). Leggere i valori di estinzione del campione (EC) e dello standard (ESTD) contro il bianco reattivo.

- PROCEDIMENTO BIREATTIVO "R2 starter"

	BIANCO	STD	CAMPIONE
REATTIVO R1	500 μ l	500 μ l	500 μ l
ACQUA DISTILLATA	25 μ l	--	--
CAMPIONE	--	--	25 μ l
STANDARD	--	25 μ l	--

Mescolare poi incubare a 15-25°C per circa 1', quindi aggiungere:

	BIANCO	STD	CAMPIONE
REATTIVO R2	500 μ l	500 μ l	500 μ l

Agitare poi incubare 5' a 37°C (15-25°C). Leggere i valori di estinzione del campione (EC) e dello standard (ESTD) contro il bianco reattivo.

CALCOLO

$$\text{Calcio [mg/dl] o [mmol/l]} = \text{EC/ESTD} \times \text{Conc. STD}$$

Urine diluite: moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

FATTORE DI CONVERSIONE

$$\text{Calcio [mg/dl]} \times 0.2495 = \text{Calcio [mmol/l]}$$

$$\text{Calcio [mg/dl]} \times 0.4990 = \text{Calcio [mEq/l]}$$

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Le prestazioni del reattivo sono riferite a 37°C e 570 nm.

Interferenze

La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 40 mg/dl.

I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 2000 mg/dl.

L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 500 mg/dl.

Il magnesio non interferisce sino alla concentrazione di 15 mg/dl.

L'acido ascorbico non interferisce sino alla concentrazione di 30 mg/dl.

Linearità

La reazione è lineare tra 1.5-15 mg/dl (0.37-3.74 mmol/l). Campioni superiori a 15 mg/dl devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High).

Risultati ottenuti:

MEDIA (mg/dl)	L = 4.10	N = 8.50	H = 12.10
D.S.	0.16	0.25	0.37
C.V.%	4.00	2.94	3.04

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA (mg/dl)	L = 3.57	N = 7.78	H = 12.22
D.S.	0.17	0.20	0.43
C.V.%	4.68	2.63	3.46

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 1.5 mg/dl (0.37 mmol/l).

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione **r = 0.89**

Le prestazioni su urina sono disponibili su richiesta.

BIBLIOGRAFIA

Ray Sarkar, B.C. et al., Anal. Bioch., 20,155, (1967).

Barnett, R.N. et al., Amer. J. Clin. Oath., 59, 836, (1973).

Kaplan, L.A., Pesce, A.J.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SIMBOLOGIA

 Consultare istruzioni per l'uso

 Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)

 Limiti temperatura di conservazione

 Dispositivo medico-diagnostico in vitro

 Fabbricante



Kit for measurement of calcium in serum, plasma and urine Colorimetric o-cresolphthalein complexone method CPC

PRINCIPLE

O-cresolphthalein complexone (CPC) reacts with calcium ions and magnesium at alkaline pH giving a strongly coloured complex: the magnesium interference is inhibited by 8-hydroxyquinoline presence. The colour intensity is directly proportional to the calcium concentration in the tested sample.

REAGENTS

R1 AMP buffer pH 10.3 330.0 mmol/l
R2 O-cresolphthalein complexone 0.16 mmol/l; 8-hydroxyquinoline 9.0 mmol/l
Calcium standard 10 mg/dl (2.50 mmol/l)

SAMPLE

- Serum or plasma. Diluted urine 1:5.

Note

- Do not use samples with haemolysis. Do not use anticoagulants as EDTA, oxalate, citrate or fluoride.
- Avoid venous standstill. The use of tourniquet can rise the calcium level in the withdrawal in 0.5 mg/dl (0.12 mmol/l) as well.
- After picked up, serum and plasma must be separated, as soon as possible, from red cells to avoid calcium absorption by red cells.
- The calcium is stable in the serum or plasma 1 day at 2-8°C or 8 months at -20°C.
- Serum strongly jaundiced or lipoemic must be tested using a blank sample.

REFERENCE VALUES

Serum Adults	8.5 - 10.8 mg/dl
Serum Children	8.5 - 12 mg/dl
Urine	100 - 300 mg/24h

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 15-25°C. Do not freeze the reagents.
- After opening, the vials **R1**, **R2** and **STD** are stable up to the expiry date if recapped immediately and protected from contamination, evaporation, direct light, and stored at the correct temperature.
- Working solution stability (**R1**+ **R2**): 6 hours at 15-25°C.

PREPARATION OF REAGENTS

Reagents are liquid and ready to use. About using as monoreagent ("sample-starter" procedure) mix the reagents **R1** and **R2** in equal parts.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is > 0.500 at 570 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm **REF** 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances.

However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

Caution: the reagents contain Sodium Azide (0.095%) as preservative. Avoid swallowing and contacting with skin, eyes and mucous membranes.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength λ : 570 (550-590) nm
Working temperature 37°C (15-25°C)
Optical path 1 cm
Reaction "end point" (increasing)

- MONOREAGENT PROCEDURE "sample starter"

	BLANK	STD	SAMPLE
WORKING REAGENT	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l
DISTILLED WATER	25 μ l	--	--
SAMPLE	--	--	25 μ l
STANDARD	--	25 μ l	--

Mix, then incubate for 5' at 37°C (15-25°C). Measure the absorbance of the sample (EC) and standard (ESTD) against the reagent blank.

- BIREAGENT PROCEDURE "R2 starter"

	BLANK	STD	SAMPLE
REAGENT R1	500 μ l	500 μ l	500 μ l
DISTILLED WATER	25 μ l	--	--
SAMPLE	--	--	25 μ l
STANDARD	--	25 μ l	--

Mix, incubate at 15-25°C for 1' and then add:
REAGENT R2 500 μ l 500 μ l 500 μ l
Mix, then incubate for 5' at 37°C (15-25°C). Measure the absorbance of the sample (EC) and standard (ESTD) against the reagent blank.

CALCULATION

$$\text{Calcium [mg/dl] o [mmol/l]} = \text{EC/ESTD} \times \text{Conc. STD}$$

Diluted urines: multiply the result for diluting factor.

CONVERSION FACTOR

Calcium [mg/dl] \times 0.2495 = Calcium [mmol/l]
Calcium [mg/dl] \times 0.4990 = Calcium [mEq/l]

ANALYTICAL PERFORMANCES

The reagent performances are related to 37°C and 570 nm.

Interferences

Bilirubin does not interfere up to concentration of 40 mg/dl.
Triglycerides do not interfere up to concentration of 2000 mg/dl.
Hemoglobin does not interfere up to concentration of 500 mg/dl.
Magnesium does not interfere up to concentration of 15 mg/dl.
Ascorbate acid does not interfere up to concentration of 30 mg/dl.

Linearity

Reaction is linear between 1.5-15 mg/dl (0.37-3.74 mmol/l). Samples with values exceeding 15 mg/dl must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).

Results:

MEAN (mg/dl)	L = 4.10	N = 8.50	H = 12.10
S.D.	0.16	0.25	0.37
C.V.%	4.00	2.94	3.04

"Inter-Assay" precision (between-Run)

Determined on 15 samples for each control (L-H-N) for 3 days.

Results:

MEAN (mg/dl)	L = 3.57	N = 7.78	H = 12.22
S.D.	0.17	0.20	0.43
C.V.%	4.68	2.63	3.46

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 1.5 mg/dl (0.37 mmol/l).

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor **r = 0.89**

The urine performances are available on request.

BIBLIOGRAPHY

Ray Sarkar, B.C. et al., Anal. Bioch., 20,155, (1967).
Barnett, R.N. et al., Amer. J. Clin. Oath., 59, 836, (1973).
Kaplan, L.A., Pesce, A.: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device



Producer