BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO S.A.S,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

CALCIUM Méthode CPC

Réactif pour le dosage quantitatif du calcium dans le sérum et le plasma humains ou les urines.

REF 80004 **R1** 1 x 200 mL **R2** 1 x 200 mL **R3** 1 x 10 mL

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES
Tel : (33) 03 23 25 15 50
support@biolabo.fr
Dernière révision : www.biolabo.fr

CE

IVD

Made In France

I : correspond aux modifications significatives

USAGE PREVU

Réactif pour le dosage quantitatif du calcium dans le sérum et le plasma humains ou les urines pour évaluer l'homéostasie calcique. Ce réactif est réservé pour un usage professionnel en laboratoire (méthode manuelle ou automatisée).

GENERALITES (1) (2)

Dans l'organisme humain, le calcium a de nombreuses fonctions, non seulement en tant que constituant des os et des dents, mais aussi en tant qu'élément indispensable à l'activité neuro-musculaire et à la coagulation sanguine.
La concentration du calcium sérique peut être altérée par une mauvaise absorption intestinale, et par une modification du taux de protéines plasmatiques, en particulier l'albumine, qu'il est important de déterminer conjointement au taux de calcium.
L'hypercalcémie est associée à l'hyperparathyroïdie, au myélome multiple, aux néoplasies osseuses et parathyroïdiennes et aux états accompagnés d'une déminéralisation rapide de l'os.
L'hypocalcémie est associée à l'hypoparathyroïdie, et dans certains cas, à la néphrose et à la pancréatite aiguë.

PRINCIPE (4)

La méthode CPC (O-Crésol Phtaléine Complexon) dérivée de Moorehead et Briggs permet la détermination du Calcium total dans le sérum, le plasma ou les urines.
En milieu alcalin, le CPC réagit avec le calcium pour former un complexe coloré rouge foncé dont l'absorbance, mesurée à 570 nm, est proportionnelle à la concentration en calcium dans le spécimen.

REACTIFS

R1 CALCIUM	Tampon	
Amino-2-méthyl-2-propanol-1	1,70	mol/L
pH 11,0 à 20°C		
Acide chlorhydrique	210	mmol/L

EUH210 : Fiche de données de sécurité disponible sur demande

P302+352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon.

P305+351+338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

R2 CALCIUM	Chromogène	
0-crésolphtaléine complexon	78	µmol/L
Hydroxy-8-Quinoléine	3,36	mmol/L
Acide chlorhydrique	25	mmol/L

R3 CALCIUM	Etalon	
Calcium	100	mg/L (2,5 mmol/L)

Ces réactifs ne sont pas classés comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales
2. Spectrophotomètre ou Analyseur de biochimie clinique

PRECAUTIONS

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

I PREPARATION DES REACTIFS

Procédure manuelle : préparer le réactif de travail en mélangeant 1 volume de R1 avec 1 volume de R2 dans un bécher en verre soigneusement lavé avec HCl 0,1 N puis bien rincé à l'eau déminéralisée.
Procédure automatisée : Prêt à l'emploi
Sur analyseurs KENZA : remplir avec le réactif dans un container comme indiqué :

- REF R000053_T sur KENZA One
- REF R000071_T sur KENZA 240 & 450.

Pour l'utilisation sur d'autres analyseurs: utiliser des containers transparents exempts de contamination par le calcium.

STABILITE ET CONSERVATION

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 18-25°C, le réactif est stable, s'il est utilisé et conservé dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :
- jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après ouverture :
- Prélever la quantité nécessaire, bien reboucher et stocker à 18-25°C.
- Les réactifs séparés (R1 et R2) sont stables au moins 3 mois.
- Le réactif de travail est stable 1 jour en l'absence de contamination.
- Rejeter tout réactif trouble ou si l'absorbance à 570 nm > 0,400.
- Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (1)

Sérum ou plasma hépariné :
Ne pas utiliser le citrate, l'oxalate ou l'EDTA. Sang prélevé sur patient à jeun, avec un minimum de stase veineuse, et en dehors de tout exercice physique ou après avoir restauré la circulation pendant au moins 1 minute.

Urines de 24 h :
Acidifier avant dosage avec 20 à 30 mL d'HCl 6N pour dissoudre tout le calcium éventuellement précipité.
Diluer (1 + 2) dans de l'eau distillée préalablement au dosage.

Le calcium total est stable :
- au moins 7 jours à 2-8°C.
- 6 mois à –20°C.

Un séjour prolongé au congélateur peut entrainer une évaporation, une lyophilisation ou une co-précipitation avec la fibrine (plasma hépariné) ou les lipides.

LIMITES (3)

Manipuler avec précaution les contrôles, spécimens et calibrant pour éviter de contaminer avec le calcium présent dans l'environnement.. Utiliser des tubes et cuvettes à usage unique, laver la verrerie avec HCl 0,1N puis bien rincer à l'eau déminéralisée.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

I CONTROLE DE QUALITE

- REF 95010 BIOLABO EXATROL-N Taux I
- REF 95011 BIOLABO EXATROL-P Taux II
- REF 95012 Contrôles urinaires
- Programme externe de contrôle de la qualité

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opération de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Préparer un sérum de contrôle frais et répéter le test.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un flacon de calibrant frais.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, répéter le test en utilisant un autre flacon de réactif.

Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

CALCIUM TOTAL dans le sérum

Population	mg/L	mmol/L
Prématuré	62-110	[1,55-2,75]
0-10 jours	76-104	[1,90-2,60]
10 jours –24 mois	90-110	[2,25-2,75]
24 mois-12ans	88-108	[2,20-2,70]
12 ans-18 ans	84-102	[2,10-2,55]
18-60 ans	86-100	[2,15-2,50]
60-90 ans	88-102	[2,20-2,55]
> 90 ans	82-96	[2,05-2,40]

CALCIUM TOTAL : urines de 24 h, 300 mg/24 h (< 7,5 mmol/24 h).

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES

Sur analyseur KENZA 240TX, 37°C, 570 nm, spécimens sériques :

Domaine de mesure : entre 52 mg/L et 200 mg/L

Limite de détection : environ 0,4 mg/L

Précision :

Intra-série N = 20	*Taux normal*	*Taux moyen*	*Taux élevé*
Moy (mg/L)	47,1	106,1	134,2
S.D. mg/L	0,7	1,7	1,7
C.V. %	1,6	1,6	1,3

Inter-série N = 20	*Taux normal*	*Taux moyen*	*Taux élevé*
Moy (mg/L)	48,0	103,9	132,7
S.D. mg/L	0,9	1,5	2,1
C.V. %	1,9	1,4	1,6

Comparaison avec réactif liquide du commerce :

Réalisée sur analyseur automatique sur sérums humains (n=93) entre 51,9 et 164,2 mg/L (n=93)

y = 1,0249 x – 2,3654 r = 0,9985

Sensibilité analytique : approx. 0,093 abs pour 10 mg/L

Interférences :

Turbidité	Interférence positive à partir de 0,076 abs.
Bilirubine totale	Pas d'interférence jusqu'à 534 µmol/L
Bilirubine directe	Pas d'interférence jusqu'à 406 µmol/L
Acide ascorbique	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 10,9 g/L
Hémoglobine	Interférence positive à partir de 109 µmol/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

Stabilité à bords : 8 jours

Stabilité de la calibration : 8 jours

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance

CALIBRATION (6)

- REF 95015 BIOLABO Multicalibrator traçable *sur SRM 909*
- REF 80004 Etalon du coffret (R3)

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

MODE OPERATOIRE

Méthode manuelle :

Introduire dans une cuve de 1 cm de trajet optique (température ambiante).
La température doit être maintenue constante car l'absorbance du colorant est sensible à la température.

Réactif de travail	1000 µL
Etalon, Contrôle ou spécimen (1)	25 µL

Bien mélanger. Incuber 5 minutes à température ambiante.
Lire les absorbances à 570 nm (550-590) contre le blanc réactif.
La coloration est stable une heure à l'abri de la lumière.

1. Urines :
   - Diluer le spécimen 1+2 dans de l'eau déminéralisée
   - Utiliser l'étalon du coffret (non dilué) pour calibrer
2. Les performances en technique manuelle devront être établies par l'utilisateur.
3. Les performances sur urines et plasmas doivent être validées par l'utilisateur
4. Les applications KENZA et autres propositions d'applications sont disponibles sur demande
5. Hémolyse, sérums troubles ou ictériques :
   - Méthode manuelle :

     Effectuer un blanc sérum en ajoutant une goutte (25 µL) d'une solution EDTA 10 mM dans chaque tube, mélanger et lire à nouveau. Déduire cette valeur de celle lue précédemment pour le spécimen.
   - Méthode automatisée :

     Analyse bichromatique : 2^{éme} longueur 700 nm.

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule :

Sérum ou plasma :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs(Essais)}}{\text{Abs(Etalon)}} \times \text{Concentration de l'Etalon}$$

Urines:

Multiplier le résultat ci-dessus par le facteur de dilution 3

REFERENCES

(1) *TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1395-1406, p.1435-1439.*

(2) *Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 202-207*

(3) *YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-115 à 3-124*

(4) *MOOREHEAD W.R., BRIGGS H.G., Clin. Chem., (1974), 20, p.1458-1460*

(5) *W. L. CLARCK, E L BALINSKI, S S MARIE, et B. ZAK,Spectrometric Study of a direct determination of Serum Calcium, Microchem. J.,20, (1975),p.22-3*

(6) *SRM : Standard Reference Material ®*

Fabricant	Date de péremption	IVD In vitro diagnostic	Température de conservation	H_2O Eau déminéralisée	Risque biologique
REF Référence Produit	Consulter la notice	LOT Numéro de lot	Stocker à l'abri de la lumière	Σ Suffisant pour	→ diluer avec