



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
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
Fax: (33) 03 23 256 256
support@biolabo.fr



USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1) (2)

Le calcium total est constitué de 3 formes chimiques dans le plasma, dont environ 50 % est du calcium libre ou ionisé, 40 % est lié aux protéines du plasma, et 10 % est complexé avec des petits anions.

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'hypoparathyroïdisme et parfois 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

O-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

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro (ne pas pipeter avec la bouche).

- 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.
- Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif de travail (WR) :

Mélanger 1 volume de R1 avec 1 volume de R2 dans un flacon soigneusement lavé avec HCl 0,1 N puis bien rincé à l'eau déminéralisée.

Les réactifs peuvent aussi être ajoutés séparément.

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.

La congélation prolongée peut entraîner 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.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales
2. EDTA solution 10 mM pour blanc sérum
3. Spectrophotomètre ou Analyseur de biochimie clinique

CONTRÔLE 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 opérations de maintenance sur l'analyseur.

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

1. Répéter l'opération en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. 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 dans les 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 à 37°C sur KENZA 240TX

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	Inter-série N = 20	Taux normal	Taux moyen	Taux élevé
Moy (mg/L)	47,1	106,1	134,2	Moy (mg/L)	48,0	103,9	132,7
S.D. mg/L	0,7	1,7	1,7	S.D. mg/L	0,9	1,5	2,1
C.V. %	1,6	1,6	1,3	C.V. %	1,9	1,4	1,6

Comparaison avec réactif liquide du commerce :

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

$y = 1,0249x - 2,3654$ $r = 0,9985$

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

Interférences :

Turbidité	Interférence positive à partir de 0,093 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 909c

- Etalon du coffret (R3)

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

MODE OPÉRATOIRE

L'adaptation détaillée KENZA 240TX est disponible sur demande

Longueur d'onde : 570 nm

Température : 37°C

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

L'intensité de la coloration varie avec la température.

Maintenir la température constante pendant toute la série de mesure

	Analyseur automatique	Procédure manuelle
Réactifs	120 µL R1 120 µL R2	WR : 1000 µL
Etalon, Contrôle ou spécimen (1)	6 µL	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.

Remarques :

1-Urines : utiliser l'étalon du coffret (non dilué) pour calibrer et contrôler avec REF 95012 (traiter comme les urines de patient)

2- Les données de performances et stabilité ont été validées sur sérums sur analyseur KENZA 240 TX et KENZA 450TX

3- En technique manuelle et sur autre analyseur automatique, les données de stabilité et performances devront être établies par l'utilisateur.

4- Des propositions d'applications sont disponibles sur demande

5- Hémolyse, sérums troubles ou icteriques :

- Méthode manuelle : effectuer un blanc sérum en ajoutant une goutte (25 µL) d'une solution EDTA 10 mM aux tubes dosage et blanc réactif, mélanger et lire à nouveau. Déduire cette valeur de celle lue précédemment pour le spécimen.

- Méthode automatisée : Analyse bichromatique : 2^{ème} longueur d'onde 500, 650 ou 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



Usage "In vitro"



Température de conservation



Référence Produit



Consulter la notice



Numéro de lot



Conserver à l'abri de la lumière



Suffisant pour



Diluer avec



Eau déminéralisée



Risque biologique