

Réactif du Calcium

Méthode de la crésolphtaléine complexone

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	:	Jusqu'à péremption à 2-8°C
Limites de linéarité	:	Jusqu'à 3,75 mmol/L (15 mg/dL)
Nature de l'échantillon	:	Sérum et Plasma
Méthode	:	Point final
Préparation du réactif	:	Mélanger des quantités égales de chaque réactif.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

	Représentant Autorisé		Limites de température
	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation		Xi - Irritant
	Réactif A		
	Réactif B		

UTILISATION PRÉVUE

Ce réactif est prévu pour la quantification in vitro de l'calcium dans le sérum ou le plasma humain.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le calcium a de nombreuses fonctions dans le corps, non seulement comme facteur structurel dans le squelette et les dents, mais également dans la fonction neuromusculaire normale et la coagulation du sang. Le niveau du calcium dans le sérum peut être affecté par une malabsorption intestinale, par des modifications de la sécrétion de PTH, par des modifications dans le métabolisme du squelette et par des modifications des niveaux des protéines du plasma, en particulier de l'albumine, qui doit être mesurée en même temps que le calcium. L'utilisateur doit se référer à l'excellente monographie de Beeler et Catrou¹ ou à un manuel standard tel que le Kaplan² pour une analyse plus détaillée du métabolisme du calcium.

MÉTHODOLOGIE

De nombreuses méthodes colorimétriques de quantification du calcium ont été utilisées dans le passé. Connerty et Briggs ont décrit des méthodes utilisant l'alizarine 3-sulphonate³ et la crésolphtaléine complexone⁴, alors que Gindler et King ont décrit une méthode utilisant le bleu de thymol⁵. Ces méthodes ont subi beaucoup de modifications ultérieures.

La méthode utilisée ici est basée sur la méthode de la crésolphtaléine complexone (CPC) de Moorehead et Briggs⁶. La CPC réagit avec le calcium et le magnésium dans une solution alcaline pour former une couleur pourpre qui absorbe la lumière à 550 nm (540-600 nm). On incorpore de la 8-hydroxyquinoline au réactif pour lier préférentiellement le magnésium et pour empêcher une interférence avec ce cation.

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs	Concentration
Réactif A	
o-Crésolphtaléine	0,14 mmol/L
8-Hydroxyquinoline	13,0 mmol/L
Réactif B	
2-Amino-2-méthyl-1-propanol	908 mmol/L

PRECAUTIONS: Ne pas ingérer. Éviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. Afin d'éliminer toutes traces de réactif, rincer avec de grandes quantités d'eau. La fiche de sécurité sur le Réactif de l'Calcium contient des informations plus détaillées.

Réactif A

R38	Irritant pour la peau.
R41	Risque de lésions oculaires graves.
S24/25	Éviter le contact avec la peau et les yeux.
S26	En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

Réactif B

R36/38	Irritant pour les yeux et la peau.
S23	Ne pas respirer les vapeurs.
S24/25	Éviter le contact avec la peau et les yeux.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Préparer le réactif opérationnel en mélangeant des volumes égaux du réactif A (colorant) et du réactif B (base). Laisser le réactif de travail reposer à température ambiante (18-25°C) pendant 1 heure avant l'emploi.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation:

Stocké entre 2 et 8 °C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon et de la boîte du kit. Protéger le réactif de la lumière.

Réactif opérationnel :

Le réactif reconstitué est stable pendant 1 semaine à température ambiante (18-25°C) ou 2 semaines entre 2-8°C.

Indications de la détérioration du réactif :

- Turbidité ;
- Absorbance du réactif >0,6 AU à 550 nm (chemin optique 1 cm) et/ou ;
- Impossibilité d'obtenir les valeurs de contrôle dans leur fourchette de tolérance.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

Collecte: Idéalement, l'échantillon doit être prélevé avec le patient en position de repos et si possible sans stase veineuse. L'utilisation d'un tourniquet et la posture debout peuvent provoquer une élévation des niveaux de calcium atteignant 0,15 mmol/L (0,6 mg/dL)².

Sérum: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Plasma: de l'héparine. Ne pas utiliser d'EDTA, d'oxalate ou de citrate⁷.

Stockage: Les échantillons de sérum ou de plasma sont stables à la température ambiante (18-25°C) ou à 4°C pendant 7 jours ou au moins 6 mois congelés⁸.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Le cas échéant, des pipettes pour répartir précisément les volumes mesurés.
- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 550nm (540-600nm).
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Étalon ou standard d'calcium aqueux adéquat.
- Serum de contrôle normal et pathologique.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Les paramètres de système suivants sont recommandés. Des applications d'instruments individuelles sont disponibles sur demande auprès du groupe de support technique.

PARAMÈTRES DU SYSTÈME

Température	37°C
Longueur d'onde	550 nm (540-600 nm)
Type de dosage	Point final
Direction	Augmentation
Échantillon : taux de réactif	1:50
p. ex. : vol. d'échantillon	6 µL
Vol. de réactif	300 µL
Temps d'incubation	60 secondes
Limites du réactif blanc	Basse 0,0 AU
(550 nm, chemin optique 1cm)	Haute 0,6 AU
Linéarité	0,0 - 3,75 mmol/L
(voir la section linéarité)	(0-15 mg/dL)
Sensibilité	0,186 ΔAbs par mmol/L
(550 nm, chemin optique 1cm)	0,047 ΔAbs par mg/dL

CALCULS

Les résultats sont calculés, habituellement automatiquement par l'instrument, comme suit :

$$\text{Calcium} = \frac{\Delta \text{Absorbance de l'inconnu}}{\Delta \text{Absorbance de l'étalon}} \times \text{valeur de l'étalon}$$

Exemple :

Δ Absorbance de l'étalon = 0,83
 Δ Absorbance de l'inconnu = 0,72
 Valeur de l'étalon = 3,20 mmol/L (12,8 mg/dL)

$$\text{Calcium} = \frac{0,72}{0,83} \times 3,20 = 2,78 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Calcium} = \frac{0,72}{0,83} \times 12,8 = 11,10 \text{ mg/dL}$$

REMARQUES

- Les volumes de réactif et d'échantillon peut être modifié en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
- La température de la réaction n'est pas critique, mais la température du spectrophotomètre doit rester constante car l'absorbance du colorant dépend de la température.
- Une très grande précision étant nécessaire pour les résultats du calcium, il est recommandé de reproduire une analyse manuelle.
- Conversions des unités : mmol/L x 4 = mg/dL.

CALIBRAGE

Le calibrage est obligatoire. Une solution aqueuse étalon ou un étalon à base de sérum, avec une valeur affectée traçable par rapport à un standard primaire (p. ex. NIST or IRMM) sont recommandés. Pour connaître la fréquence de calibrage des analyseurs de biochimie, se référer aux spécifications de la notice de fabrication.

Cependant, la stabilité du calibrage est liée aux performances de l'analyseur ainsi qu'à l'utilisation des réactifs conservés dans les conditions décrites dans le paragraphe STABILITÉ ET CONSERVATION de cette notice. Un nouveau calibrage est recommandé, dans les situations suivantes :

- Changement de numéro du lot
- Maintenance préventive ou remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.
- Les contrôles ne sortent pas à l'intérieur de leur fourchette de tolérance, et l'addition d'un nouveau flacon de contrôle ne peut remédier à ce problème.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Pour garantir un contrôle adéquat de la qualité, des contrôles normaux et exceptionnels doivent être pratiqués sur des échantillons inconnus :

- Au moins toutes les huit heures.
- Lorsqu'un nouveau flacon de réactif est utilisée.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un des composants fondamentaux de l'analyseur.

Si les résultats de contrôle ne sortent pas dans leur fourchette de tolérance, procéder alors aux actions suivantes :

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats sont encore , en dehors de leur fourchette de tolérance préparer un sérum de contrôle frais et recommencer le test.
- Si les résultats sont toujours en dehors de leur fourchette de tolérance, recalibrer à l'aide d'un calibrateur frais, et répéter le test.
- Si les mêmes problèmes de ciblage persistent, effectuer un calibrage avec du réactif fraîchement préparé, puis répéter le test.
- Si malgré ces opérations les résultats de contrôle restent en dehors de leur fourchette de tolérance, contactez notre service.

LIMITES DE LA PROCEDURE

- Les études pour déterminer le niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie ont été effectuées et les résultats suivants ont été obtenus.

Hémoglobine : Aucune interférence avec l'hémoglobine jusqu'à 500 mg/dL.

Bilirubine : Aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 1000 μ mol/L (60 mg/dL).

Lipémie : Aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 11 mmol/L (1000 mg/dL).

- Young DS⁹ a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS PRÉVUES

Il est généralement admis qu'avec les méthodes actuelles pour le calcium du sérum, la plage de référence est environ 2,1 – 2,6 mmol/L (8,4 – 10,4 mg/dL) avec une valeur moyenne d'environ 2,35 mmol/L (9,4 mg/dL).^{2,10}

Les valeurs mentionnées sont représentatives de l'éventail des valeurs physiologiques pour cette méthode et de la population testée. Elles ne sont donc données qu'à titre indicatif. Nous recommandons à chaque laboratoire de vérifier ces valeurs et, éventuellement, de redéfinir ses propres valeurs physiologiques.¹¹

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif de l'Calcim-CPC sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs devront établir les caractéristiques de la performance du produit sur leur propre analyseur.

IMPRÉCISION

Pendant l'opération:	Niveau I	Niveau II
NNombre de points de données	40	40
Moyenne (mmol/L)	2,09	3,14
Moyenne (mg/dL)	8,37	12,54
SD (mmol/L)	0,02	0,03
SD (mg/dL)	0,09	0,11
CV (%)	1,1	0,9

D'un jour à l'autre:

	Niveau I	Niveau II
Nombre de points de données	40	40
Moyenne (mmol/L)	2,09	3,14
Moyenne (mg/dL)	8,37	12,54
SD (mmol/L)	0,05	0,05
SD (mg/dL)	0,21	0,21
CV (%)	2,5	1,7

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un réactif de l'Calcim-CPC du commerce similaire comme référence. Des échantillons de sérum ont été dosés en parallèle et les résultats comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre d'échantillons en double	64
Plage de mesures des échantillons	0,33-3,68 mmol/L (1,30-14,70 mg/dL)
Pente	1,002
Coordonnées à l'origine	-0,35 mmol/L (1,4 mg/dL)
Coefficient de Corrélation	0,9888

LINÉARITÉ:

Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 3,75 mmol/L (15 mg/dL).


SENSIBILITÉ

S'il est effectué selon les recommandations, la sensibilité du présent dosage est de 0,186 Δ Abs par mmol/L ou de 0,047 Δ Abs par mg/dL (chemin lumineux de 1 cm, 550 nm).

RÉFÉRENCES

- Beeler MF and Catrou PG. "Disorders of Calcium Metabolism" in Interpretations in Clinical Chemistry A.C.S.P. Press Chicago 1983; 34-44.
- Farrell CE. "Electrolytes" in Clinical Chemistry Theory, Analysis and Correlation. The CV Mosby Company. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed). 1984; Chap 55: 1054.
- Connerty HV, Briggs AR. Clin Chem 1965; 11: 716-28.
- Connerty HV, Briggs AR. Am J Clin Path 1966; 45: 290-6.
- Gindler EM, Kin JD. Am J Clin Path 1972; 58: 376-82.
- Moorehead W.R. and Briggs H.C., Clin Chem 1974; 20, 1458.
- Tietz NW. (Ed) Textbook of Clinical Chemistry WB Saunders 1986; 1893.
- Cowley D.M., et al. Clin Chem 1986; 32, 894.
- Young DS, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition. 1990: 3:76-83.
- Tietz NW. (Ed) Textbook of Clinical Chemistry WB Saunders 1986; 1350.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

 Fisher Diagnostics
 a division of Fisher Scientific Company, LLC
 a subsidiary of Thermo Fisher Scientific Inc.
 Middletown, VA 22645-1905 USA
 Phone: 800-528-0494
 540-869-3200
 Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
 Arundel House
 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL UK
 840409 (R0)



REF

Information Commandes

No de Catalogue	REAG	
	A	B
TR29321	1 x 125 mL	1 x 125 mL