



Ca-Color

Arsenazo III AA

Método colorimétrico directo para la determinación de calcio en suero, plasma y orina

SIGNIFICACION CLINICA

El calcio es esencial en la mayoría de las reacciones de la coagulación sanguínea y en la regulación de la excitabilidad de las fibras musculares.

Su concentración en suero y orina está regulada por la acción de factores tales como niveles de parathormona, vitamina D y fósforo, observándose fluctuaciones fisiológicas debidas a edad, sexo, embarazo, actividad física, cambios estacionales (por acción de la luz solar).

La hipercalcemia está relacionada con distintas patologías: hiperparatiroidismo, neoplasias óseas, intoxicaciones con vitamina D.

La hipocalcemia se asocia con desórdenes tales como hipoparatiroidismo, deficiencia de vitamina D, malabsorción.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El calcio reacciona con arsenazo III dando un complejo de color azul que se mide fotocolorimétricamente a 650 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de arsenazo III 100 mg/l y 8-hidroxi-quinolina sulfonato 1,4 g/l en buffer Tris 100 mM, pH 8,5.

S. Standard*: solución de calcio 10 mg/dl.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Agua destilada o desionizada.

- **Calibrador A plus** de Wiener lab. cuando se emplea la técnica automática. Puede también emplearse en calibración de técnicas manuales.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

Standard: cada vez que se use, transferir una cantidad en exceso a un tubo limpio y pipetear de allí el volumen necesario, descartando el sobrenadante.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Evitar la exposición prolongada del Reactivo A a la luz directa.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La turbidez o decoloración del Reactivo A indica deterioro del mismo, mientras que absorbancias del blanco mayor a 1,200 D.O. a 650 nm (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO), son indicio de contaminación con calcio. En ambos casos, desechar.

MUESTRA

Suero, plasma heparinizado u orina

a) Recolección:

- Suero o plasma: obtener de la manera usual.

- Orina: recolectar orina de 24 horas sobre 20 ml de ácido clorhídrico al 50%. Llevar a 2 litros con agua y homogeneizar.

b) Aditivos: en caso de utilizar plasma, se debe usar heparina como anticoagulante. Si la muestra a emplear es orina, se debe acidificar con ácido clorhídrico al 50% durante su recolección.

c) Sustancias interferentes conocidas: los anticoagulantes distintos de la heparina, complejan al calcio produciendo resultados erróneos. No interfieren: bilirubina hasta 200 mg/l, hemoglobina hasta 350 mg/dl, magnesio hasta 10 mg/dl, ni triglicéridos hasta 500 mg/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse una semana en refrigerador (2-10°C) o más de 5 meses en el congelador, sin agregado de conservadores.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.

- Micropipetas y pipetas capaces de medir los volúmenes indicados.

- Tubos o cubetas espectrofotométricas.

- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 650 nm en espectrofotómetro o 620-650 nm en fotocolorímetro.

- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (15-25°C).

- Tiempo de reacción: 2 minutos

- Volumen de muestra: 10 ul

- Volumen final de reacción: 1,01 ml

Los volúmenes de muestra y Reactivo A se pueden variar proporcionalmente (ej.: 20 ul de muestra + 2 ml de Reactivo A o 5 ul de muestra + 0,5 ml de Reactivo A).

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard o Calibrador) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Muestra	-	-	10 ul
Standard o Calibrador	-	10 ul	-
Agua destilada	10 ul	-	-
Reactivo A	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar e incubar 2 minutos a temperatura ambiente (15-25°C). Leer la absorbancia en espectrofotómetro a 650 nm o en fotocolorímetro (620-650 nm), llevando el aparato a cero con el Blanco.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de reacción final es estable 1 hora, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$1) \text{ Calcio sérico (mg/dl)} = D \times f \quad f = \frac{10 \text{ mg/dl o C}}{S}$$

donde:

C = concentración de calcio en el Calibrador A plus en caso de utilizar este reactivo

$$2) \text{ Calcio urinario (mg/24 hs)} = \frac{D}{S} \times 200 \text{ mg/24 hs}$$

En el caso de orinas con volúmenes de diuresis superiores a los 2 litros o que no han sido llevadas a 2 litros con agua destilada, utilizar el siguiente cálculo:

$$\text{ Calcio urinario (mg/24 hs)} = \frac{D}{S} \times 100 \times V$$

donde:

100 = concentración del Standard en mg/l

V = volumen de la diuresis en litros/24 hs

CONVERSION DE UNIDADES

Ca (mg/dl) = Ca (mmol/l) x 4

Ca (mmol/l) = Ca (mg/dl) x 0,25

Ca (mg/dl) = Ca (mEq/l) x 2

Ca (mEq/l) = Ca (mg/dl) x 0,5

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de calcio, con cada determinación. En el caso de muestras de orina, utilizar un control con base de orina.

VALORES DE REFERENCIA

Suero: 8,5 - 10,5 mg/dl

Orina: hasta 300 mg/24 hs (para una dieta normal)

En una población de 120 individuos sanos, provenientes de

la ciudad de Rosario (Argentina), de ambos sexos (entre 20 y 45 años), con una ingesta restringida en calcio, se encontró:

Orina: 60 - 200 mg/24 hs

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

A longitudes de onda inferiores a 650 nm, pueden encontrarse lecturas de Blanco superiores a 1,200 D.O. que no afectan los resultados.

Contaminaciones: el material a utilizar debe estar rigurosamente limpio, libre de calcio y de toda traza de anticoagulante. Para ello aconsejamos lavar con detergentes no iónicos (**Noión** de Wiener lab.) o ácidos minerales diluidos, efectuando varios enjuagues con agua destilada.

Se aconseja separar pipetas y tubos para uso exclusivo de esta determinación.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente 20 replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

	Nivel	D.S.	C.V.
Suero	9,2 mg/dl	± 0,18 mg/dl	1,93 %
	11,0 mg/dl	± 0,10 mg/dl	0,88 %
Orina	104 mg/24 hs	± 2,68 mg/24 hs	2,57 %
	372 mg/24 hs	± 6,64 mg/24 hs	1,79 %

Procesando la misma muestra en diferentes días, se obtuvo:

Suero	9,1 mg/dl	± 0,16 mg/dl	1,74 %
	12,1 mg/dl	± 0,16 mg/dl	1,29 %
Orina	117 mg/24 hs	± 2,9 mg/24 hs	2,44 %
	266 mg/24 hs	± 7,0 mg/24 hs	2,62 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 20 mg/dl. Para valores superiores, repetir la determinación empleando muestra diluida al 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica y multiplicar el resultado obtenido por 2 ó 4 respectivamente.

c) Límite de cuantificación: la mínima concentración de calcio detectable por este método es de 2,5 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION

- 4 x 50 ml (Cód. 1152004)

- 8 x 20 ml (Cód. 1009307)

- 8 x 20 ml (Cód. 1009248)

- 8 x 20 ml (Cód. 1009606)

BIBLIOGRAFIA


- Morgan, B.R.; Artiss, J.D.; Zak, B. - Clin. Chem. 39/8:1608 (1993).

- Leary, N.O.; Penbroke, A.; Duggan, P.F. - Clin. Chem. 38/6:904 (1992).


- Burtis C., Ashwood, E. - Tietz Textbook of Clinical Chemistry, WB Saunders Co., 3° ed, 1999.
- Martinek, R.G. - J. Am. Med. Techn. 33:416 (1971).
- Rojkin, M. y Mariani, M. de - Bioquím. Clín. VII/4:405 (1973).
- Lorenzo, L.E. ; Drappo, G.A. - 1° Congreso Argentino de Osteología y Metabolismo Mineral - Rosario (1984).
- Drappo, G.; Lorenzo, L.; - Revista ABA 239:230 (1979).
- Connerty, H.V.; Briggs, A.R. - Am. J. Clin. Path. 45:290 (1966).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W. - "Fundamentals of Clinical Chemistry", W.B. Saunders, Philadelphia, 2001.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"


 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico


 Volumen después de la reconstitución

 Contenido


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar instrucciones de uso


 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. Nº: 4209/01

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina