



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 PROCESAMIENTO), 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)
- 8 x 20 ml (Cód. 1009914)*

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., 3º 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. - 1º 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", AACCC 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



Ca-Color

Arsenazo III AA

Método colorimétrico direto para a determinação de cálcio em soro, plasma e urina

SIGNIFICADO CLÍNICO

O cálcio é um elemento muito importante na maioria das reações da coagulação sanguínea e na regulação da excitabilidade das fibras musculares.

Sua concentração em soro e urina está regulada pela ação de fatores tais como níveis de parathormônio, vitamina D e fósforo; observando-se variações fisiológicas devidas à idade, sexo, gravidez, atividade física, mudanças de estação (pela ação da luz solar).

A hipercalcemia está relacionada com diferentes patologias tais como: hiperparatiroidismo, neoplasias ósseas, intoxicação com vitamina D.

A hipocalcemia associa-se com alterações tais como hipoparatiroidismo, deficiência de vitamina D, má-absorção.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

O cálcio reage com arsenazo III produzindo um complexo de cor azul que se mede em fotocolorímetro a 650 nm.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução de arsenazo III 100 mg/l e 8-hidroxi-quinolina sulfonato 1,4 g/l em tampão Tris 100 mM, pH 8,5.

S. Padrão*: solução de cálcio 10 mg/dl.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Água destilada ou desionizada.

- **Calibrador A plus** da Wiener lab. para a técnica automática. Pode também empregar-se em calibração de técnicas manuais.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

Padrão: toda vez que for utilizado, transferir uma quantidade em excesso a um tubo limpo, pipetar o volume necessário e descartar o restante.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Evitar a exposição do Reagente A à luz direta.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

A turbidez ou perda da cor do Reagente A são indícios de deterioração do mesmo, enquanto absorbâncias do Branco $\geq 1,200$ D.O. a 650 nm (vide LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO), são indícios de contaminação com cálcio. Descartar em ambos casos.

AMOSTRAS

Soro, plasma heparinizado ou urina

a) Coleta:

- Soro ou plasma: obter da maneira habitual.

- Urina: coletar urina de 24 horas sobre 20 ml de ácido clorídrico a 50%. Levar a 2 litros com água e homogeneizar.

b) Aditivos: no caso de usar plasma deve-se utilizar heparina como anticoagulante.

Se a amostra a empregar for urina, deve-se misturar com ácido clorídrico a 50% durante sua obtenção.

c) Substâncias interferentes conhecidas: os anticoagulantes diferentes da heparina, comprometem o cálcio produzindo resultados errôneos. Não interferem: bilirrubina até 200 mg/l, hemoglobina até 350 mg/dl, magnésio até 10 mg/dl nem triglicérides até 500 mg/dl.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferivelmente fresca. Pode ser conservada durante uma semana sob refrigeração (2-10°C) ou mais de 5 meses congelada, sem acrescentar conservantes.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro.

- Micropipetas ou pipetas capazes de medir os volumes indicados.

- Tubos ou cubas espectrofotométricas.

- Cronômetro.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 650 nm em espectrofotômetro ou 620-650 nm em fotocolorímetro.

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

- Tempo de reação: 2 minutos

- Volume de amostra: 10 μ l

- Volume final de reação: 1,01 ml

Os volumes de Amostra e de Reagente A podem ser modificados proporcionalmente (Ex.: 20 μ l de Amostra + 2 ml de Reagente A ou 5 μ l de Amostra + 0,5 ml de Reagente A).

PROCEDIMENTO

Em três tubos marcados B (Branco), P (Padrão ou Calibrador) e D (Desconhecido) colocar:

| | B | P | D |
|-----------------------------|-------|-------|-------|
| Amostra | - | - | 10 ul |
| Padrão ou Calibrador | - | 10 ul | - |
| Água destilada | 10 ul | - | - |
| Reagente A | 1 ml | 1 ml | 1 ml |

Misturar, incubar 2 minutos a temperatura ambiente (15-25°C) e ler a absorbância em espectrofotômetro a 650 nm ou em fotocolorímetro (620-650 nm), zerando o aparelho com o Branco.

ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

A cor de reação final é estável 1 hora, pelo que a absorbância deve ser lida dentro deste tempo.

CÁLCULOS DOS RESULTADOS

$$1) \text{ Cálculo sérico (mg/dl)} = D \times f \quad f = \frac{10 \text{ mg/dl ou C}}{P}$$

onde:

C = concentração de cálcio no Calibrador A plus no caso de empregar este reagente

$$2) \text{ Cálculo urinário (mg/24 hs)} = \frac{D}{P} \times 200 \text{ mg/24 hs}$$

No caso de urinas com volumes de diurese maiores a 2 litros ou que não foram levados a 2 litros com água destilada, utilizar o seguinte cálculo:

$$\text{Cálculo urinário (mg/24 hs)} = \frac{D}{P} \times 100 \times V$$

onde:

100 = concentração do Padrão em mg/l

V = volume da diurese em litros/24 hs

CONVERSÃO DE UNIDADES

$$\text{Ca (mg/dl)} = \text{Ca (mmol/l)} \times 4$$

$$\text{Ca (mmol/l)} = \text{Ca (mg/dl)} \times 0,25$$

$$\text{Ca (mg/dl)} = \text{Ca (mEq/l)} \times 2$$

$$\text{Ca (mEq/l)} = \text{Ca (mg/dl)} \times 0,5$$

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Se a amostra a ensaiar for soro, processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de cálcio, em cada determinação. Se a amostra for urina, utilizar um controle baseado em urina.

VALORES DE REFERÊNCIA

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

Urina: até 300 mg/24 hs (com dieta normal)

Em uma população de 120 indivíduos sadios, provenientes

da cidade de Rosario (Argentina), pertencentes a ambos sexos (entre 20 e 45 anos), com uma dieta livre de cálcio, obteve-se:

Urina: 60 - 200 mg/24 hs

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. No caso de comprimentos de onda inferiores a 650 nm, podem-se obter leituras do Branco superiores a 1.200 D.O. que não afetam os resultados.

Contaminações: o material a ser utilizado deve ficar rigorosamente limpo, livre de cálcio e de todo resto de anticoagulante. Aconselhamos lavar com detergentes não iônicos (**Noión** da Wiener lab.) ou ácidos minerais diluídos, enxugando finalmente com água destilada.

Aconselha-se separar pipetas e tubos para uso exclusivo da determinação.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente 20 duplicatas das mesmas amostras num mesmo dia, obtiveram-se os seguintes dados:

| | Nível | D.P. | C.V. |
|--------------|--------------|-----------------|--------|
| Soro | 9,2 mg/dl | ± 0,18 mg/dl | 1,93 % |
| | 11,0 mg/dl | ± 0,10 mg/dl | 0,88 % |
| Urina | 104 mg/24 hs | ± 2,68 mg/24 hs | 2,57 % |
| | 372 mg/24 hs | ± 6,64 mg/24 hs | 1,79 % |

Processando a mesma amostra em diferentes dias, obteve-se:

| | | | |
|--------------|--------------|----------------|--------|
| Soro | 9,1 mg/dl | ± 0,16 mg/dl | 1,74 % |
| | 12,1 mg/dl | ± 0,16 mg/dl | 1,29 % |
| Urina | 117 mg/24 hs | ± 2,9 mg/24 hs | 2,44 % |
| | 266 mg/24 hs | ± 7,0 mg/24 hs | 2,62 % |

b) Linearidade: a reação é linear até 20 mg/dl. Para valores acima, repetir a determinação utilizando amostra diluída 1:2 ou 1:4 com solução fisiológica e multiplicar por 2 ou 4 o resultado obtido.

c) Limite de quantificação: a mínima concentração de cálcio detectável pelo método é 2,5 mg/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração do aparelho deve ser utilizado o **Calibrador A Plus** de Wiener lab.

APRESENTAÇÃO

- 4 x 50 ml (Cód. 1152004)

- 8 x 20 ml (Cód. 1009307)

- 8 x 20 ml (Cód. 1009248)

- 8 x 20 ml (Cód. 1009606)

- 8 x 20 ml (Cód. 1009914)*

REFERÊNCIA

- 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., 3º ed, 1999.
- Martinek, R.G. - J. Am. Med. Techn. 33:416 (1971).
- Rojkin, M. y Mariani, M. de - Bioquim. Clín. VII/4:405 (1973).
- Lorenzo, L.E. ; Drappo, G.A. - 1º 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, 4ª ed., 2001.
- Tietz, N.W. - "Fundamentals of Clinical Chemistry", W.B. Saunders, Philadelphia, 2001.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após a reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Ca-Color

Arsenazo III AA

Direct colorimetric method for the determination of calcium in serum, plasma and urine

SUMMARY

Calcium is an essential element in most blood clotting reactions and in the regulation of muscle fibers excitability. Calcium concentration in serum and urine is regulated by the action of factors such as parathormone levels, vitamin D and phosphorous. Physiological fluctuations are due to age, sex, pregnancy, physical activity, seasonal changes (sunlight incidence).

Hypercalcemia is related to different diseases: hyperparathyroidism, bone neoplasias, vitamin D poisoning. Hypocalcemia is associated to disorders such as hypoparathyroidism, vitamin D deficiency and malabsorption.

PRINCIPLE

Calcium reacts with arsenazo III, yielding a blue colored complex, which is photocolometrically measured at 650 nm.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: solution of 100 mg/l arsenazo III and 1.4 g/l 8-hydroxyquinoline sulphonate in 100 mM Tris buffer, pH 8.5.
S. Standard*: 10 mg/dl calcium solution.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Wiener lab.'s **Calibrador A plus** when the automatic technique is used. It may also be employed in the calibration of manual techniques.
- Deionized or distilled water.

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

Standard: whenever used, transfer an excess amount to a clean test tube and pipette the necessary volume, discarding the supernatant.

WARNING

Reagents are for "in vitro" diagnostic use. Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories. The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: are stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Avoid prolonged exposition of the Reagent A to direct light.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Turbidity or decoloration of Reagent A indicates deteriora-

tion, while blank absorbances > 1.200 O.D. at 650 nm (see PROCEDURE LIMITATIONS), indicate calcium contamination. Discard in both cases.

SAMPLE

Serum, heparinized plasma or urine

a) Collection:

- Serum or plasma: obtain in the usual way.
- Urine: collect 24 hours urine over 20 ml 50% hydrochloric acid. Bring the sample volume to 2 liters with water. Homogenize.

b) Additives: if plasma is used as sample, heparin should be used as anticoagulant. If urine is used as sample, it should be acidified with 50% hydrochloric acid during collection.

c) Known interfering substances: anticoagulants other than heparin, bind to the calcium yielding a complex, thus giving erroneous results. No interferences are observed from bilirubin up to 200 mg/l, hemoglobin up to 350 mg/dl, magnesium up to 10 mg/dl nor from triglycerides up to 500 mg/dl. See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

c) Stability and storage instructions: sample should be preferably fresh. Sample may be kept for one week in refrigerator (2-10°C) or over 5 months in freezer without any preservatives.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer or photocolimeter.
- Micropipettes or pipettes for measuring the stated volumes
- Test tubes or spectrophotometric cuvettes.
- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 650 nm in spectrophotometer or 620-650 nm in photocolimeter.
 - Reaction temperature: room temperature (15-25°C).
 - Reaction time: 2 minutes
 - Sample volume: 10 ul
 - Final reaction volume: 1.01 ml
- Reagent A and sample volumes may proportionally vary (e.g. 20 ul sample + 2 ml Reagent A or 5 ul sample + 0.5 ml Reagent A).

PROCEDURE

In three test tubes labeled B (Blank), S (Standard or Calibrator) and U (Unknown) place:

* Non-provided with all kit sizes

| | B | S | U |
|-------------------------------|-------|-------|-------|
| Sample | - | - | 10 ul |
| Standard or Calibrator | - | 10 ul | - |
| Distilled water | 10 ul | - | - |
| Reagent A | 1 ml | 1 ml | 1 ml |

Mix and incubate 2 minutes at room temperature (15-25°C). Read absorbance in spectrophotometer at 650 nm or in photocolormeter with red filter (620-650 nm) setting the instrument to zero O.D. with Blank.

STABILITY OF FINAL REACTION

Final reaction color is stable for 1 hour. Therefore, absorbance should be read within that period.

CALCULATIONS

$$1) \text{ Serum calcium (mg/dl)} = U \times f \quad f = \frac{10 \text{ mg/dl or C}}{S}$$

where:

C = calcium concentration in Calibrator A plus, if using this reagent

$$2) \text{ Urinary calcium (mg/24 hrs)} = \frac{U}{S} \times 200 \text{ mg/24 hrs}$$

For urine with diuresis volumes over 2 liters or that have not been brought to 2 liters with distilled water, use the following calculation:

$$\text{Urinary calcium (mg/24 hrs)} = \frac{U}{S} \times 100 \times V$$

where:

100 = Standard concentration in mg/l

V = diuresis volume in liters/24 hrs

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known calcium concentration. If running urine samples, a urine-based control should be used.

REFERENCE VALUES

Serum: 8.5 - 10.5 mg/dl

Urine: up to 300 mg/24 hs (normal diet)

In a population including 120 healthy individuals from Rosario (Argentina) of both sexes (between 20-45 years old) with a calcium-free diet, was obtained the following result:

Urine: 60 - 200 mg/24 hs

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

CONVERSION UNITS

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

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known Interfering Substances under SAMPLE.

Blank readings higher than 1,200 O.D. may be obtained at wavelengths lower than 650 nm which do not affect the results.

Contamination: glassware should be thoroughly clean, free from calcium or any trace of anticoagulant. It is recommended to wash glassware with non-ionic detergents (Wiener lab's Noion) or diluted mineral acids, rinsing several times with distilled water.

It is advisable to keep pipettes and test tubes for exclusive use on this determination.

PERFORMANCE

a) Reproducibility: assaying 20 replicates from the same samples on the same day, the following results were obtained:

| | Level | S.D. | C.V. |
|--------------|--------------|-----------------|--------|
| Serum | 9.2 mg/dl | ± 0.18 mg/dl | 1.93 % |
| | 11.0 mg/dl | ± 0.10 mg/dl | 0.88 % |
| Urine | 104 mg/24 hs | ± 2.68 mg/24 hs | 2.57 % |
| | 372 mg/24 hs | ± 6.64 mg/24 hs | 1.79 % |

Performing the same assay on different days, the following results were obtained:

| | | | |
|--------------|--------------|----------------|--------|
| Serum | 9.1 mg/dl | ± 0.16 mg/dl | 1.74 % |
| | 12.1 mg/dl | ± 0.16 mg/dl | 1.29 % |
| Urine | 117 mg/24 hs | ± 2.9 mg/24 hs | 2.44 % |
| | 266 mg/24 hs | ± 7.0 mg/24 hs | 2.62 % |

b) Linearity: reaction is linear up to 20 mg/dl. For higher values, repeat testing using 1:2 or 1:4 diluted sample with saline solution, multiplying final result by 2 or 4 respectively.

c) Quantification limit: the minimum detectable calcium concentration will be of 2.5 mg/dl.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user's manual of the autoanalyzer in use.

For calibration use Wiener lab's **Calibrador A plus**.

WIENER LAB. PROVIDES

- 4 x 50 ml (Cat. N° 1152004).

- 8 x 20 ml (Cat. N° 1009307).

- 8 x 20 ml (Cat. N° 1009248).

- 8 x 20 ml (Cat. N° 1009606).

- 8 x 20 ml (Cat. N° 1009914)*.

REFERENCES

- 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).

- Martinek, R.G. - J. Am. Med. Techn. 33:416 (1971).

- Rojkin, M. y Mariani, M. de - Bioquim. Clin. 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.
- Burtis C., Ashwood, E. - Tietz Textbook of Clinical Chemistry, WB Saunders Co., 3^o ed, 1999.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

 This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices

| | |
|---|---|
|  | Authorized representative in the European Community |
|  | "In vitro" diagnostic medical device |
|  | Contains sufficient for <n> tests |
|  | Use by |
|  | Temperature limitation (store at) |
|  | Do not freeze |
|  | Biological risks |
|  | Volume after reconstitution |
|  | Contents |
|  | Batch code |
|  | Manufactured by: |
|  | Harmful |
|  | Corrosive / Caustic |
|  | Irritant |
|  | Consult instructions for use |
|  | Calibrator |
|  | Control |
|  | Positive Control |
|  | Negative Control |
|  | Catalog number |



Nr kat. 1152004 Nr kat. 1009606
Nr kat. 1009248 Nr kat. 1009914
Nr kat. 1009307

Ca-Color

Arsenazo III AA

Metoda kolorymetryczna bezpośrednia do oznaczania poziomu wapnia w surowicy krwi, osoczu i moczu

WSTĘP

Wapń jest niezbędnym minerałem w większości procesów krzepnięcia oraz regulacji pobudliwości włókien mięśniowych. Poziom stężenia wapnia w surowicy i w moczu jest uwarunkowany przez takie czynniki jak: poziom parathormonu, witaminy D i poziom fosforu.

Fizjologiczna zmienność poziomu wapnia związana jest z wiekiem, płcią, aktywnością fizyczną oraz porami roku (wpływ światła słonecznego).

Hyperkalcemia jest związana z różnymi stanami chorobowymi: nadczynnością przytarczyc, chorobami nowotworowymi kości, zatruciem witaminą D.

Hipokalcemia jest związana z takimi chorobami jak: niedoczynność tarczycy, niedoborem witaminy D i zespołami złego wchłaniania.

ZASADA DZIAŁANIA

Wapń reaguje z arsenazo III, tworząc niebieski kompleks, który jest fotokolorymetrycznie pomierzony przy długości fali 650 nm.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: roztwór 100 mg/l arsenazo III i 1,4 g/l siarczan hydroksychinolinowy w 10 mM buforu Tris, pH 8,5.

S. Próba wzorcowa*: 10 mg/dl roztworu wapnia.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Wiener lab.'s **Calibrador A plus** do zastosowania w analizatorach automatycznych. Może być również zastosowany do kalibracji w metodzie ręcznej.

- destylowana lub dejonizowana woda.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

Próbka wzorcowa: przed użyciem przelać do czystej próbki nadmiar ilości i odmierzyć pipetą niezbędną objętość pozostawiając nadsącz.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki wyłącznie do użycia "in vitro".

Nie spożywać. Unikać kontaktu z oczami i skórą. Jeśli odczynniki zostaną rozbite lub rozlane splukać dużą ilością wody. Każdy materiał pobrany od pacjenta powinien być traktowany jako potencjalnie zakaźny.

Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany powinni być odrzucone zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczone odczynniki: trwałe w lodówce w temperaturze 2-10°C do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Unikać długotrwałych ekspozycji Odczynnika A na bezpośrednie światło.

BRAK TRWAŁOŚCI I POGORSZENIE JAKOŚCI ODCZYNNIKÓW

Zmętnienie lub utrata koloru Odczynnika A wskazuje na nieprawidłowości, przy absorpcji ślepej próbki powyżej 1.200 O.D. przy długości fali 650 nm (zobacz OGRANICZENIA PROCEDURY), wskazuje na zanieczyszczenie wapieniem. W obu przypadkach nie należy stosować odczynników.

MATERIAŁ BADANY

Surowica, heparynizowane osocze lub mocz

a) Pobranie:

- pobrać surowicę lub osocze w klasyczny sposób.

- mocz: zbiórka dobowa na 20 ml roztworu 50% kwasu wodorochlorowego. Dopełnić słoik do objętości 2 litrów wodą. Wymieszać w celu homogenizacji.

b) Substancje dodatkowe: Jeśli materiałem jest osocze należy dodać antykoagulantu. Jeżeli mocz jest materiałem, powinien zostać zakwaszony 50% kwasem wodorochlorowym.

c) Znane interakcje: inne antykoagulanty (poza heparyną) dają kompleksy z wapniem co daje nieprawidłowe wyniki.

Nie obserwowano interakcji z bilirubiną do 200 mg/l, trójglicerydami do 500 mg/dl, hemoglobina do poziomu 350 mg/dl oraz magnezem do poziomu 10 mg/dl.

Sprawdź źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: materiał powinien być świeży. Przechowywanie możliwe do tygodnia w lodówce w temp. 2-10°C, powyżej 5 miesięcy przechowywać w zamrażarce bez żadnych utrwalczy.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- spektrofotometr lub fotokolorymetr,

- mikropipety lub pipety do pomiaru objętości,

- próbki do badań lub kuwety spektrofotometryczne,

- stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- długość fali: 650 nm w spektrofotometrze lub 620-650 nm w fotokolorymetrze

- temperatura reakcji: 15-25°C

- czas reakcji: 2 min.

- objętość materiału: 10 ul
 - objętość końcowa reakcji: 1,01 ml
- Odczynnik A i materiał mogą różnić się w swoich objętości proporcjonalnie (np. 20 ul materiału + 2 ml Odczynnika A lub 5 ul materiału + 0,5 ml Odczynnika A).

PROCEDURA

W trzech próbkach oznaczonych B (ślepa), S (wzorcowa), U (badana) umieścić:

| | B | S | U |
|--------------------------------------|--------|--------|--------|
| Materiał | - | - | 10 ul |
| Próba wzorcowa lub Kalibrator | - | 10 ul | - |
| Woda destylowana | 10 ul | - | - |
| Odczynnik A | 1,0 ml | 1,0 ml | 1,0 ml |

Wymieszać i inkubować przez 2 min. w temperaturze pokojowej 15-25°C. Odczytywać w spektrofotometrze przy długości fali 650 nm lub w fotokolorymetrze z czerwonym filtrem w przedziale długości fal 620-650 nm ustawiając urządzenie na zero O.D. przy ślepej próbce.

TRWAŁOŚĆ REAKCJI KOŃCOWEJ

Kolor końcowej reakcji jest stabilny przez 1 godz. Odczyt powinien nastąpić w/w okresie.

OBLICZENIA

1) **Wapń w surowicy** (mg/dl) = $U \times f$

$$f = \frac{10 \text{ mg/dl lub C}}{S}$$

gdzie: C = stężenie wapnia w Kalibratorze A plus, jeśli użyto tego odczynnika

2) **Wapń w moczu** (mg/24godz.) = $\frac{U}{S} \times 200 \text{ mg/24 godz.}$

Dla moczu ze zbiórką dobową powyżej 2 litrów lub bez dopełnienia do 2 litrów wodą destylowaną należy zastosować następujące obliczenia:

$$\text{Wapń w moczu (mg/24godz.)} = \frac{U}{S} \times 100 \times V$$

gdzie:

100 = standardowe stężenie w mg/l
V = dobowy zbiórka moczu w litrach

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania za każdym razem należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (Standatrol S-E 2 niveles) ze znanym stężeniem wapnia. Jeśli oznacza się próbkę moczu, powinna być wykorzystana kontrola moczu.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Surowica: 8.5 - 10,5 mg/dl

Mocz: do 300 mg/24 godz. (przy normalnej diecie)

W populacji zdrowej (120 osób) Rosario (Argentyna) obu płci (między 20-45 rż.) przy diecie wolnej od wapnia ustalono następujące wyniki:

Mocz: 60 - 200 mg/24 godz.

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

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

OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz ZNANE INTERAKCJE w rozdziale MATERIAŁ.

Odczyty ślepej próbki wyższe niż 1,200 O.D. mogą być otrzymane przy długości fali niższej niż 650 nm, co nie wpływa na wyniki.

Zanieczyszczenie: szkło laboratoryjne powinno być dobrze umyte, wolne od wapnia i jakichkolwiek śladów antykoagulantu. Zaleca się mycie szkła laboratoryjnego niejonowymi detergentami (Wiener lab's Noion) lub rozcieńczonymi kwasami mineralnymi, spłukiwać kilka razy wodą destylowaną. Zaleca się stosowanie oddzielnych pipet i probówek wyłącznie dla tej procedury.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Powtarzalność:** wykonano 20 powtórzeń tego samego materiału w tym samym dniu i otrzymano następujące wyniki:

| | poziom | S.D. | C.V. |
|-------------------|------------|--------------|--------|
| Materiał surowica | 9,2 mg/dl | ± 0,18 mg/dl | 1,93 % |
| | 11,0 mg/dl | ± 0,10 mg/dl | 0,88 % |

| | poziom | S.D. | C.V. |
|---------------|----------------|-------------------|--------|
| Materiał mocz | 104 mg/24godz. | ± 2,68 mg/24godz. | 2,57 % |
| | 372 mg/24godz. | ± 6,64 mg/24godz. | 1,79 % |

Wykonując to samo badanie w różnych dniach, otrzymano następujące wyniki:

| | poziom | S.D. | C.V. |
|-------------------|------------|--------------|--------|
| Materiał surowica | 9,1 mg/dl | ± 0,16 mg/dl | 1,7 % |
| | 12,1 mg/dl | ± 0,16 mg/dl | 1,29 % |

| | poziom | S.D. | C.V. |
|---------------|----------------|------------------|--------|
| Materiał mocz | 117 mg/24godz. | ± 2,9 mg/24godz. | 2,44 % |
| | 266 mg/24godz. | ± 7,0 mg/24godz. | 2,62 % |

b) **Linijność:** reakcja jest liniowa do 20 mg/dl. Dla wyższych wartości należy powtórzyć badanie z rozcieńczeniem materiału badanego 1:2 lub 1:4 z solą fizjologiczną a następnie pomnożyć wyniki razy 2 lub 4 odpowiednio.

c) **Ograniczenie ilościowe metody:** najmniejsze wykrywalne stężenie wapnia to 2,5 mg/dl.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się z instrukcją obsługi celem programowania analizatorów automatycznych. Dla kalibracji można zastosować Wiener lab. **Calibrador A plus**.

WIENER LAB. DOSTARCZA

- 4 x 50 ml (Nr kat. 1152004).
- 8 x 20 ml (Nr kat. 1009307).
- 8 x 20 ml (Nr kat. 1009248).
- 8 x 20 ml (Nr kat. 1009606).
- 8 x 20 ml (Nr kat. 1009914).

ŹRÓDŁA

- 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^s 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^o 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.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed

 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość

 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa

 Substancja żrąca

 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Tec.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 4209/01

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina