



Calcio Arsenazo III
Método Colorimétrico

Para uso en diagnósticos *In-Vitro* solamente
Almacenar a (2-8°C)

Uso Previsto

Para la medida de concentración de calcio en el suero humano o plasma.

Introducción

El calcio es el mineral más abundante y uno de los más importantes minerales en el cuerpo humano, aproximadamente 99% del calcio en el cuerpo es encontrado en los huesos.

Una disminución de niveles de albúmina causa una reducción en el calcio sérico, bajos niveles de calcio son encontrados en hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, deficiencia de vitamina D, desnutrición y mala absorción intestinal.

Entre las causas de hipercalcemia están el cáncer, largo consumo de vitamina D, incrementada retención renal, osteoporosis, sarcosidosis, tirotoxicosis, hiperparatiroidismo.

El diagnóstico clínico no debe ser realizado basado en un solo resultado de prueba; debería integrar datos clínicos y de otros laboratorios.

Principio

El calcio con Arsenazo III (1, 8-dihidroxi-3, 6-disulpho-2, 7-naftalina-bis (azo)-dibenzeneársenic ácido), en pH neutra, produce un complejo coloreado de azul.

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de calcio en la muestra.

Materiales

Material Suministrado

| | | |
|-------------------------|---|-----------|
| R (Arsenazo III) | Imidazol buffer ph 6.5 | 100mmol/L |
| | Arsenazo III | 120mmol/L |
| Calcio Cal | Calcio acuoso primario estándar 10mg/dl | |

Materiales Requeridos pero no Suministrados

- Espectrofotómetro o colorímetro midiendo a 650.
- Cubetas emparejadas de 1.cm de espesor.
- Equipo de laboratorio en general.

Almacenaje y Estabilidad

- Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de expiración en la etiqueta cuando se almacenan estrechamente cercanos a 2-8°C, protegidos de la luz y evitando contaminaciones durante su uso.
- No utilizar reactivos más allá de su fecha de expiración.
- **Signos de Deterioro del Reactivo:**
 - Presencia de partículas y turbidez.
 - Absorbencia en blanco (A) a 650nm \geq 0.50.

Preparación

Todos los reactivos están listos para usarse.

Muestras

Suero o plasma: Separadas de las células tan rápido como es posible. Anticoagulantes con Oxalato o EDTA no son aceptables ya que estos químicos quelarán fuertemente el calcio.

Orina: Colectar espécimen de orina de 24 horas en contenedores libres de calcio. Las botellas coleccionadoras deben contener 10 ml de ácido nítrico diluido (50% v/v). Registrar el volumen.

Diluir ½ de la muestra en agua destilada. Mezclar. Multiplicar los resultados por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de las muestras: El calcio es estable durante 10 días a 2-8°C.

Procedimiento

1. Condiciones de ensayo:

Longitud de onda..... 650nm
Cubeta.....1.cm de espesor (paso de la luz)
Temperatura.....37°C / 15-25°C

2. Ajustar el instrumento a cero con agua destilada.
3. Pipetear en la cubeta:

| | En blanco | Estándar | Muestra |
|---------------|-----------|----------|---------|
| R (ml) | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Estándar (µl) | | 10 | |
| Muestra (µl) | | | 10 |

4. Mezclar e incubar 2 minutos a 37°C / 15-25°C
5. Leer la absorbencia (A) de las muestras y del estándar, contra el en Blanco. El color es estable por lo menos 60 minutos.

Cálculos

Suero, plasma

$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Estándar}} \times 10 \text{ (Conc. estándar)}$$

= mg/24-hours calcio total

Orina

$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Estándar}} \times 10 \times \text{vol. (dl) orina} / 24 \text{ h}$$

=mg/24-horas total de calcio
Factor de conversión: mg/dl X0.25=mmol/l

Valores de referencia

Suero, plasma

| | |
|----------------|---------------------------------|
| Recién nacidos | 8-13 mg/dl (2-3.5 mmol/L) |
| Niños | 10-12 mg/dl (2.5-3 mmol/L) |
| Adultos | 8.5-10.5 mg/dl (2.1-2.6 mmol/L) |

Orina

| | |
|---------|---------------------------------|
| Adultos | 50-300 mg/24h (1.25-7.5 mmol/L) |
| Niños | 80-160 mg/24h (2-4 mmol/L) |

Estos valores tienen un propósito de orientación, cada laboratorio debería establecer su propio rango de referencia.

Control de Calidad

- Si los valores de control son encontrados fuera del rango definido, chequear el instrumento, los reactivos y el calibrador por problemas.
- Cada laboratorio debe establecer su propio esquema de Control de Calidad y acciones correctivas si los controles no cumplen las tolerancias aceptables.

Interferencias

Ninguna interferencia fue observada con triglicérido a 1.25g/l.

Una lista de fármacos y otras sustancias interfirientes con la determinación de calcio han sido reportadas por Young et al.

Notas

1. La calibración con el estándar acuoso puede causar un error sistemático en procedimientos automáticos. En estos casos, se recomienda utilizar un suero Calibrador.
2. Utilizar puntas de pipetas desechables limpias para su dispensación.
3. CALCIO CAL: Proceder cuidadosamente con este producto porque debido a su naturaleza puede contaminarse fácilmente.

4. Se recomienda utilizar material desechable el cual debería ser escrupulosamente limpiado con HNO₃ diluido al 1/1 en agua y luego enjuagar profusamente con agua destilada.
5. Muchos de los detergentes y productos suavizantes del agua usados en laboratorios contienen agentes quelantes. Un agente defectuoso, un enjuague defectuoso invalidaría el procedimiento.

Características del Método

Rango de Medida

Desde el *límite de detección* de 0.22 mg/dL al *límite de linealidad* de 30mg/dL.

Si los resultados obtenidos fueran mayores que el límite de linealidad, diluir ½ de la muestra con 9g/L de NaCl y multiplicar el resultado por 2.

Precisión

| | Intra-ensayo (n=20) | | Inter-ensayo (n=20) | |
|------------------|---------------------|------|---------------------|------|
| Promedio (mg/dL) | 9.11 | 13.7 | 9.31 | 14.1 |
| SD | 0.10 | 0.15 | 0.20 | 0.28 |
| CV (%) | 1.10 | 1.07 | 2.16 | 1.98 |

Sensibilidad: 1mg/dL=0.017 A.

Exactitud:

Los resultados obtenidos utilizando reactivos ATLAS (y) no muestran diferencias sistemáticas cuando son comparados con otros reactivos comerciales (x). Los resultados obtenidos utilizando 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0.99.

Ecuación de regresión=0.9741 + 0.2595.

Los resultados de las características del método dependen del analizador utilizado.

Referencias

1. Michaylova, V, and Illkova, P. Anal. Chim. Acta. 53:194 (1971)
2. Friedman and Young. Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests (Efectos de la Enfermedad en las Pruebas de Laboratorio Clínico), 3th ed. AACC Press, 1997.
3. Young, D.S., Pestaner, L.D. y Gibberman, V. Clin. Chem. 21, Vol. 5, 10-432D (1975).
4. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests (Guía Clínica par alas Pruebas de Laboratorio), 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).

ATLAS MEDICAL

William James House

Cowley Rd, Cambridge, CB4 0WX

Tel.: ++44 (0) 1223 858 910

Fax: ++44 (0) 1223 858 524

PPI238A01

Rev C (06.04.2013)