



Ca-Color

Para la determinación de calcio sérico y urinario

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 la cresolfaleín complexona (cfx) a pH 11, dando un complejo de adición color magenta que se mide fotocolorimétricamente a 570 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de cresolfaleín complexona 3,7 mmol/l.

B. Reactivo B: solución de aminometil propanol (AMP) 0,2 mol/l en metanol 35% V/V para pH final 11.

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

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

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 resto.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Reactivo B: irritante. H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables a temperatura ambiente (< 25°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Ca-Color se caracteriza por presentar Blancos más bajos que todos los sistemas similares que usan Cfx u otros indicadores de calcio. Absorbancias altas de los Blancos son indicio de contaminación con calcio. Desechar cuando las lecturas de los Blancos sean mayores o iguales a 0,300 D.O.

MUESTRA

Suero u orina

a) Recolección:

- Suero: 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: si la muestra a emplear es orina, se debe acidificar con ácido clorhídrico al 50% durante su recolección.

c) Sustancias interferentes conocidas: los anticoagulantes complejan al calcio produciendo resultados erróneos.

No interfieren: proteínas hasta 15 g/dl, fosfatos hasta 5 g/l, bilirrubina hasta 200 mg/l, hemólisis intensa o lipemia hasta 15 g/l. 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.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 570 nm en espectrofotómetro o 560-590 nm en fotocolorímetro con filtro rojo.

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

- Volumen de muestra: 20 ul

- Volumen final de reacción: 3,57 ml

Los volúmenes de muestra y de reactivos pueden disminuirse o aumentarse proporcionalmente. (Ej.: 25 ul de Reactivo A + 1,75 ml de Reactivo B + 10 ul de Muestra).

PROCEDIMIENTO

Se aconseja trabajar directamente en tubos o cubetas espectrofotométricas, de manera de poder determinar un Blanco interno para cada ensayo, condición indispensable para controlar las trazas de calcio que pudieran haber escapado al proceso de lavado del material.

En dos tubos marcados S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	S	D
Reactivo A	50 ul	50 ul
Reactivo B	3,5 ml	3,5 ml

Mezclar y leer la absorbancia de ambos tubos (Blancos internos: BS y BD) en espectrofotómetro a 570 nm o en fotocolorímetro con filtro rojo (560-590 nm) llevando el aparato a cero con agua destilada. Agregar:

Standard	20 ul	-
Muestra	-	20 ul

Mezclar inmediatamente. Después de 10 minutos, volver a leer (S° y D°).

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de reacción final es estable 3 horas, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Corregir las lecturas restando los Blancos internos correspondientes:

$$S^{\circ} - BS = S$$

$$D^{\circ} - BD = D$$

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

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

CONVERSION DE UNIDADES

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

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

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

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

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.

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.

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 un enjuague final con agua destilada.

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

PERFORMANCE

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

Nivel	D.S.	C.V.
7 mg/dl	± 0,12 mg/dl	1,7 %
10 mg/dl	± 0,11 mg/dl	1,1 %
15 mg/dl	± 0,10 mg/dl	0,68 %

b) Recuperación: agregando cantidades conocidas de calcio a distintos sueros, se obtuvo una recuperación entre 97,5 y 101% para todo nivel de calcio estudiado.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 20 mg/dl. Para valores superiores, repetir la determinación empleando 10 ul de Muestra o muestra diluida al 1:2 con solución fisiológica y multiplicar por 2 el resultado obtenido.

Según el aparato empleado, la reacción puede no cumplir la ley de Beer. Por esta razón, debe constatararse la respuesta del sistema mediante una curva de calibración preparada con 20 y 40 ul de Standard, procesados de la manera indicada en el PROCEDIMIENTO. La lectura corregida del segundo tubo de la curva (20 mg/dl) no debe diferir en más del 5% del valor calculado en base al primer tubo (10 mg/dl), si la respuesta es lineal.

En casos de desvíos (positivos o negativos) superiores al 5%, debe emplearse la curva de calibración para los cálculos.

d) Comparación con métodos de referencia: procesando distintas muestras, con **Ca-Color** y con otro método tomado como referencia, y comparando los resultados obtenidos por ambos métodos se observa que:

1- Tomando el método de absorción atómica como referencia (propuesta por el National Bureau of Standards), los resultados obtenidos muestran una correlación satisfactoria, con un coeficiente de correlación = 0,86.

2- Tomando el método de Clark y Collip como referencia, se demuestra que los resultados son estadísticamente iguales, con una diferencia promedio menor de 0,2 mg/dl.

PRESENTACION

- 60 -145 determinaciones (Cód. 1152001).

BIBLIOGRAFIA

- Martinek, R.G. - J. Am. Med. Techn. 33:416 (1971).
- Rojkin, M. L. y Mariani, M.C.O. 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 N° 239 pág. 230, 1979.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Burtis C., Ashwood, E. - Tietz Textbook of Clinical Chemistry, WB Saunders Co., 3º ed, 1999.

SIMBOLOS

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.
Disp. N°: 252/75-7434-98



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina