



# 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: bilirrubina 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
<b>Muestra</b>	-	-	10 ul
<b>Standard o Calibrador</b>	-	10 ul	-
<b>Agua destilada</b>	10 ul	-	-
<b>Reactivo A</b>	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

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

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

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

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

## 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.
<b>Suero</b>	9,2 mg/dl	± 0,18 mg/dl	1,93 %
	11,0 mg/dl	± 0,10 mg/dl	0,88 %
<b>Orina</b>	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:

<b>Suero</b>	9,1 mg/dl	± 0,16 mg/dl	1,74 %
	12,1 mg/dl	± 0,16 mg/dl	1,29 %
<b>Orina</b>	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., 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", AACCPress, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W. - "Fundamentals of Clinical Chemistry", W.B. Saunders, Philadelphia, 2001.

## 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 / Caústico

 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