

REACTIVO DE CALCIO ARSENAZO III**USO:**

Para la determinación cuantitativa de calcio en suero o plasma heparinizado.

SIGNIFICADO CLINICO:

El aumento de calcio en suero, puede ser observado en hiperparatiroidismo, intoxicación por Vitamina D, mieloma múltiple y algunas enfermedades neoplásicas de huesos. La disminución de Calcio puede observarse en hipoparatiroidismo, deficiencia de Vitamina D, Esteatorrea, Nefrosis y Nefritis.

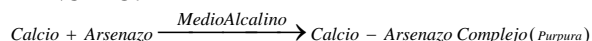
HISTORIA DEL METODO:

Varias metodologías han sido desarrolladas para la determinación de Calcio incluyendo fotometría de flama, fluorescencia, procedimientos gravimétricos y titrimétricos, métodos de Ion selectivo y absorción atómica. Este último ha sido recomendado como método de referencia pero requiere de instrumentos muy costosos.

Los métodos de unión de colorantes específicos son los más usuales porque son más rápidos, convenientes y económicos. Los procedimientos que utilizan alizarin 3-sulfonato y azul metil-timol fueron descritos en.^{4,5}

El método que usa cresoftaleina complexona como cromógeno fue desarrollado en 1966 por Connerty y Biggs, y modificado por Gitelman y en 1967 y por Baginski en 1973.^{6,7,8} Los procedimientos con o-Cresoftaleina Complexona han sido ampliamente usados en los últimos años.

En esta época el método mas usado es Arsenazo III y ha sido modificado para que tenga una alta sensibilidad y estabilidad. La interferencia del magnesio es prevenida por la inclusión de sulfonato 8 hidroxiquinolina. El reactivo es proveído listo para usarse en forma líquida.

PRINCIPIO:

El calcio reacciona con Arsenazo III en un medio ligeramente alcalino para formar un complejo color púrpura que se pueda leer a 650 nm. La intensidad del color es proporcional a la concentración del calcio.

REACTIVOS:

1. Reactivo de Calcio: Arsenazo III \geq 0.15 mM, Sulfonato 8-hidroxiquinolina 5.0 mM, Buffer, Surfactante.

PREPARACION DEL REACTIVO:

Reactivo listo para su uso.

ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO:

Almacenar a temperatura ambiente (15-30 °C).

DETERIORO DEL REACTIVO:

No use si el reactivo esta turbio.

PRECAUCIONES:

Este reactivo es para diagnóstico "In Vitro" únicamente.

Este reactivo podría ser irritante para la piel. Evitar el contacto. Enjuague con suficiente agua si ocurre algún contacto.

COLECCION Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA:

1. El suero recién colectado y no hemolizado es la muestra recomendada.
2. Plasma heparinizado podría ser usada.
3. Otros anticoagulantes diferentes a la heparina no deben ser usados.
4. Remover el suero del coágulo tan pronto como sea posible, las células rojas pueden absorber al calcio.
5. Las muestras viejas que contienen precipitados visibles no deben ser utilizadas.
6. El calcio en suero es estable por 24 horas a temp. ambiente, una semana en refrigeración (2-8°C) y más de cinco meses congelado (-15 a -25 °C) y protegido de evaporación.¹³

INTERFERENCIAS:

1. Las sustancias que contienen complejos de calcio dan resultados erróneos.
2. Los tubos de vidrio que ya vienen cubiertos con residuos contienen calcio. Deben ser lavados con mezcla de ácido antes de su uso. Se recomienda los tubos de plástico
3. Bilirrubina arriba de 20 mg/dl y hemoglobina hasta 500mg/dl no interfieren.
4. Sueros lipémicos causan resultados elevados. En estos casos se recomienda correr blancos de suero
5. Para una mejor comprensión de las interferencias, favor de consultar Young, et al.¹⁵

MATERIALES PROVISTOS:

Reactivo de Calcio.

MATERIALES REQUERIDOS:

1. Los instrumentos precisos de pipeteo
2. Tubos de ensayo de vidrio lavados con ácido previamente o tubos de plástico y una gradilla.
3. Espectrofotómetro disponible para leer a 650 nm (600 – 670 nm).
4. Reloj (Cronómetro)

PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO:

Utilizar las aplicaciones específicas para cada equipo.

PROCEDIMIENTO MANUAL:

1. Etiquete los tubos de muestreo, "blanco", "estándar", "control" y "muestras".
2. Pipetee 1.0 ml de reactivo a cada uno de los tubos.
3. Agregue 0.010 ml (10 ul) de muestra a cada tubo. Mezclar y dejar reposar por un minuto a Temp. amb.
4. Poner el cero con el blanco de reactivo a 650 nm.
5. Leer el record de absorbancia de todos los tubos.
6. Calcular resultados. Ver cálculos.

NOTAS DEL PROCEDIMIENTO:

1. El color final es estable por 60 minutos.
2. Muestras con calcio por encima de 15 mg/dl, podrían ser diluidas 1:1 con solución salina. Se vuelve a correr la prueba y los resultados se multiplican por 2.
3. Muestras severamente lipémicas requieren un blanco de muestra. Agregue 10 ul de muestra a 1.0 ml de agua destilada. Leer de nuevo contra agua a 650 nm. Reste la lectura de la absorbancia de la absorbancia de la muestra.
4. La contaminación de los tubos de vidrio pueden afectar los resultados de las pruebas.
5. Los volúmenes de reactivo y muestras podrían ser ajustados de acuerdo a los requerimientos del espectrofotómetro específico que va a ser usado.

LIMITACIONES:

Muestras con valores de calcio que excedan a 15 mg/dl podrían ser diluidas en partes iguales con solución salina, el ensayo se tiene que repetir y el resultado multiplicarlo por 2. Muestras lipémicas tienen que correrse con blanco de reactivo. (Ver Notas de Procedimiento)

CALIBRACION:

Utilice estándar de calcio acuoso (10mg/dl) o un calibrador apropiado.

CALCULOS:

$$\frac{\text{Abs de la Muestra}}{\text{Abs del Estándar}} \times \text{Conc. del Estándar} = \text{Calcio mg / dl}$$

CONTROL DE CALIDAD:

La integridad de la reacción podría ser monitoreada por el uso de sueros controles normal y anormal con concentraciones de calcio conocidas. Se recomienda que los controles se corran con cada determinación de calcio y cada laboratorio deberá establecer la frecuencia del uso de dichos controles.

VALORES ESPERADOS:

Adultos: 8.5 – 10.4 mg/dl ¹⁷
 Recién Nacidos: 7.8 – 11.2 mg/dl ¹⁸

Es altamente recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

DESEMPEÑO:

1. Linearidad 0 – 15 mg/dl ¹⁶
2. Comparación: Un estudio elaborado con o-cresoftaleina complexona nos dio un coeficiente de 0.989 con una ecuación de regresión de $y=0.99 + 0.10$ (n=80, rango = 4.7 – 15.9 mg/dl).
3. Precisión:

Entre Pruebas

Conc.	D.E.	C.V.%
11.0	0.14	1.3
14.3	0.13	0.9

Prueba a prueba

Conc.	D.E.	C.V.%
11.2	0.12	1.1
14.3	0.18	1.3

4. Sensibilidad: Los últimos estudios registrados indican que este reactivo puede distinguir concentraciones de calcio de 0.1 mg/dl a través del rango lineal del ensayo.

REFERENCIAS:

1. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia. W.B. Saunders, p. 149 (1984)
2. Henry, J.B. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Philadelphia, Saunders, p. 149 (1984).
3. Cali, J. P., et al. N.B.S., Sp. Publication 260:36 (1972).
4. Connerty, H.V. and Boggs, Ar., Am. J. Clin Chem. 11:716 (1965)
5. Gindler, E.M. ang King, J.D., Am. J. Clin. Path.58:376 (1972).
6. Connerty, H.V. and Biggs, A.R. Am. J. Clin. Path. 45:290 (1966).
7. Gitelman, H.J., Anal. Biochem 18.521 (1967).
8. Baginski, E.S., et al, Clin Chem Acta (1973)
9. Ritcherich, R. Clinical Chemistry: Theory and Practice, Academic Press, New-York, (1969).
10. Peters Van Slyke, D.D. Quantitative Chemical Chemistry, Williams and Wilkins, Baltimore, vol, 2. (1932).
11. Chen, P.S. Toribara, T. y Anal. Chem. 26.1967 (1954).
12. Tayeau, F., etal, bull, Soc. Pharm. Bordeaux 95.206(1956).
13. Henry, R.J., et al Clinical chemistry, principals and Technics, Harper y Row, p.669(1974).
14. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders, p. 1208 (1984).
15. Young D.S. et al, Clin. Chem. 21.1D (1975).
16. Pointe Scientific records.
17. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, p.1208 (1984).
18. Meites, Samuel, Pediatric Clinical Chemistry, Washington DC, AACC Press, p. 81 (1989).

Rev. 10/01 P803-C7529-01
 Traducción al esp. 3/15/2004 - MCG



DISTRIBUOTOR:
MYM Laboratory & Medical Supply, Inc.
 8684 Ave. de la Fuente Ste. 14
 San Diego CA. 92154
 Tel. (619) 710-0126 Fax. (619) 710-0297
 www.mysupply.com
 email: mail@mysupply.com