



Diagnostic Chemicals Limited

ISO 9001
REGISTERED
QUALITY SYSTEM



Calcio-Advance™

Números de catálogo: 145-20
145-80

Presentaciones: 4 x 125 mL
1 x 1,000 mL

USO

Para la determinación cuantitativa *in vitro* de calcio total en suero, plasma heparinizado y orina.

PRECAUCION

S24/25: Evite el contacto con la piel y ojos.

REACTIVOS

Reactivo Calcio-Advance™: solución que contiene un amortiguador (pH 5.5 a 25°C), 60 µmol/L de Fosfonazo III, estabilizadores y un conservador.

ANTECEDENTES

La mayor parte del calcio en el cuerpo se encuentra en los huesos. El resto está en el suero y desempeña diversas funciones. Por ejemplo, los iones calcio disminuyen la excitabilidad neuromuscular, participan en la coagulación sanguínea y activan algunas enzimas. La hipercalcemia puede surgir a raíz de un hiperparatiroidismo, hipervitaminosis D, mieloma múltiple y algunas enfermedades neoplásicas óseas (1).

La hipocalcemia puede resultar de un hipoparatiroidismo, esteatorrea, nefrosis, nefritis y pancreatitis (1).

Tradicionalmente, ha sido difícil medir el calcio de manera exacta y precisa, habiéndose desarrollado una gran cantidad de métodos para este efecto. Entre los cuales se encuentran la fotometría de flama, la precipitación de oxalato mediante titulación, espectrofotometría de absorción atómica, quelación con EDTA y más recientemente, complejos coloridos de calcio que se miden espectrofotométricamente. Algunos ejemplos de colorantes de calcio son la o-cresolftaleína complexota, el Arsenazo III y el Fosfonazo III, siendo éste último el colorante que se utiliza en este método para la determinación del calcio.

PRINCIPIO

Fosfonazo III + Ca⁺⁺ → Complejo Ca- Fosfonazo (azul-violeta)

El Fosfonazo III reacciona con el calcio en solución para formar un complejo azul-violeta. El color desarrollado tiene una absorbancia máxima a 600 nm y es proporcional a la concentración de calcio en la muestra.

PREPARACION DEL REACTIVO

El reactivo incluido está listo para su uso

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

El reactivo es estable a 18-26°C hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas.

DETERIORO DEL REACTIVO

La solución del reactivo debe ser clara. La turbidez indica deterioro.

EQUIPO Y MATERIALES

Materiales proporcionados

Se proporciona el reactivo necesario para la determinación de calcio total.

Materiales requeridos

Puede emplearse cualquier analizador con control de temperatura de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ que sea capaz de leer la absorbancia exacta con una sensibilidad de 0.001 a 660 nm. El ancho de la banda debe ser de 10 nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o menos y la exactitud de la longitud de onda dentro de 2 nm.

RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

Las muestras de elección son suero fresco y claro, plasma heparinizado u orina. No deben usarse anticoagulantes que contengan calcio o que pudieran quelar o precipitar el calcio, como EDTA, citratos, oxalatos y fluoruros. El calcio sérico es estable por 1 día a 4°C y por un año cuando se congela. El plasma debe analizarse fresco y recolectarse orina de 24 horas en un frasco que contenga 20-30 mL de HCl 6N o acidificarla después de la recolección (3)

Centrifugue las muestras de orina que contengan precipitados antes de llevar a cabo el análisis.

PREPARACION DE LA CRISTALERIA

Toda la cristalería usada en el análisis de calcio debe descontaminarse al sumergirla durante toda una noche en HCl 1N o por 6 horas en HCl 6N. La cristalería debe enjuagarse bien con agua desionizada antes de usar. Las jeringas en los dispensadores también debieran enjuagarse el HCl 6N seguido de agua desionizada antes de que se utilicen para el análisis de calcio.

INTERFERENCIAS

La contaminación ambiental en los análisis de calcio ocasiona resultados inexactos a menos que se apliquen los procedimientos de descontaminación antes mencionados.

Se evaluaron las interferencias para este método debidas a ictericia, lipemia, hemoglobina y ácido ascórbico en un analizador Hitachi 911 utilizando un criterio de importancia de variancia $>10\%$ a partir del control. Los datos para plasma y orina son similares a los presentados para el suero.

No se encontró interferencia icterica importante en presencia de concentraciones de bilirrubina de 0-40 mg/dL (0-684 $\mu\text{mol/L}$).

No se encontró interferencia lipémica importante en concentraciones de Intralipid desde 0-1000 mg/dL (0-3000 mg/dL de triglicéridos).

No se encontró interferencia importante con hemoglobina a concentraciones de 0-1000 mg/dL (0-155 $\mu\text{mol/L}$).

No se encontró interferencia importante con ácido ascórbico a concentraciones de 0-3000 $\mu\text{g/dL}$.

Se puede encontrar un resumen sobre la influencia de las drogas en pruebas de laboratorio consultando a Young, D.S. (2).

PROCEDIMIENTO

Condiciones

Siga las instrucciones indicadas para la adaptación de la técnica a analizadores automatizados específicos o contacte al servicio técnico de DCL para determinar los parámetros específicos del instrumento.

Hitachi 911

Longitud de onda	660 nm / 700 nm
Temperatura	37°C
Paso de luz	Depende del instrumento
Tipo de reacción	Punto final
Tiempo de reacción	3 min
Volumen de muestra.....	3 µL
Volumen de reactivo	3.0 mL
Volumen total	3.03 mL
Relación muestra/reactivo	1:100

CALIBRACION

No se incluye un estándar de calcio con el equipo; sin embargo, puede usarse alguno conforme a las instrucciones para calibrar el procedimiento. La frecuencia de calibración en los sistemas automatizados depende del mismo sistema y de los parámetros utilizados.

CONTROL DE CALIDAD

Se deben analizar un suero control de nivel normal y otro de nivel anormal según se requiera. Los resultados deberán caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULO Y RESULTADOS

Cálculos

Los cálculos son llevados a cabo por los analizadores automatizados

Limitaciones

Una muestra con una concentración de calcio que exceda el límite de linealidad deberá diluirse con solución salina a 0.9% y volver a analizar incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

VALORES ESPERADOS (1)

Suero: (3)

Bebés prematuros	6.0-10.0 mg/dL	1.5-2.5 mmol/L
Lactantes a término	7.3-12.0 mg/dL	1.8-3.0 mmol/L
1 a 2 años	10.0-12.0 mg/dL	2.5-3.0 mmol/L
Adultos	8.0-10.5 mg/dL	2.0-2.6 mmol/L

Plasma: (4)

Adultos	8.6-10.3 mg/dL
	2.15-2.57 mmol/L

Orina: (3)

Hombres	< 275 mg/24 hr	< 6.87 mmol/24 hr
Mujeres	< 250 mg/24 hr	< 6.25 mmol/24 hr

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca el rango normal para el área donde está localizado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estas características de rendimiento se obtuvieron en los laboratorios de DCL usando el analizador automatizado Hitachi 911 a menos que se indique lo contrario.

Estudio de Recuperación

Se añadió calcio a dos muestras de suero para incrementar las concentraciones de calcio en 1.3 mmol/L (5 mg/dL) y en 2.6 mmol/L (10 mg/dL). La recuperación del calcio agregado tuvo un promedio de 97%.

Resultados

Las concentraciones de calcio se expresan en mg/dL (mmol/L).

Estudio de recuperación

Se añadió acetato de calcio a un grupo de sueros, plasma y orina humanos para aumentar las concentraciones de calcio a 1.9 mg/dL (0.476 mmol/L) y 4.8 mg/dL (1.190 mmol/L). la recuperación del calcio agregado promedió 99.6% en el suero, 96.9% en el plasma y 104.4% en la orina.

Rango de Linealidad

El procedimiento es lineal hasta 5.0 mmol/L (20 mg/dL). La linealidad dependerá de la relación muestra/reactivo utilizada.

Rango Reportable (NCCLS EP6-P)

El límite lineal del procedimiento descrito es de 20.0 mg/dL (5.00 mmol/L) en suero, plasma heparinizado y orina. El límite inferior de detección del procedimiento descrito es de 0.2 mg/dL (0.05 mmol/L). estos datos resultan en un rango reportable de 0.2 a 20.0 mg/dL (0.05 a 5.00 mmol/L).

Estudios de Precisión (NCCLS EP5-T2)

Se estableció la precisión dentro de una corrida al analizar cada muestra 20 veces. La precisión total se estableció al analizar dos muestras por corrida, dos veces al día por 20 días.

La precisión estimada para el suero se obtuvo utilizando dos niveles de sueros control disponibles comercialmente.

Calcio	Media mmol/L	Desviación Estándar mmol/L	Coefficiente de Variación %
Suero 1	2.35	0.03	1.3
Suero 2	3.21	0.04	1.2

La precisión dentro de la corrida se estableció ensayando 2 sueros control 25 veces cada uno.

Calcio	Media mmol/L	Desviación Estándar mmol/L	Coefficiente de Variación %
Suero 1	2.67	0.03	1.1
Suero 2	3.08	0.03	1.0

Exactitud

Se hizo una comparación entre este método y un método similar con Arsenazo III usando 42 muestras que oscilaron de 0.29 mmol/L a 4.5 mmol/L. El coeficiente de correlación fue de 0.993. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.04 (\text{método de referencia}) - 0.06 \text{ mmol/L.}$$

REFERENCIAS

1. Tietz, N.W. (Ed.), Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Toronto, 636-638, 937 (1970).
2. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, Third Edition, 1990.
3. Kaplan, L.A., Pesce, A.J., "Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and correlation", C.V. Mosby Co., St. Louis (1984).