



TECO GRAM S.A.
Av. San Jorge 428 y 10ma.
Guayaquil - Ecuador
042396966 – 042397979 – 042396610
tecogram@gye.satnet.net

JUEGO DE REACTIVOS PARA CALCIO

JUEGO DE REACTIVOS PARA CALCIO

Para la determinación directa y fotocolorimétrica del calcio sérico.

INTRODUCCION

Más del 99% del calcio del cuerpo está presente en los huesos y dientes. El restante 1% está presente en la sangre y en los tejidos blandos y sirve como factor de la coagulación sanguínea, el metabolismo y la fisiología neuromuscular. El calcio sérico está presente en tres formas diferentes: 1) Cerca del 45% se presenta en forma no iónica y 3) El restante 50% del calcio sérico está en forma iónica (Libre).

Muchos factores influyen en los niveles de calcio sérico: La hipercalcemia (aumento del calcio sérico) se observa en el hiperparatiroidismo, sarcoidosis, mieloma y ciertos cánceres de los huesos. La hipocalcemia (disminución del calcio sérico) se encuentra en el hipoparatiroidismo, nefrosis, nefritis, esteatorrea y pancreatitis. Cualquier disminución de las proteínas séricas frecuentemente resultan en disminución de los niveles de calcio sérico total. También aparece una relación recíproca entre el calcio y el fósforo. Los incrementos en el fósforo inorgánico de suero se asocian con una disminución del calcio sérico.

Algunos antiguos procedimientos para la determinación del calcio conllevaban la precipitación del calcio y la determinación del anión del agente precipitante. Los compuestos de calcio se determinan últimamente por medio de espectrofotometría de absorción atómica lo cual ha sido recomendado como método de referencia para la determinación del calcio sérico total. La espectrofotometría de absorción atómica conlleva a equipos sofisticados y costosos. En el desarrollo de reactivos portadores e indicadores metalocrómicos, la absorción atómica fue remplazada rápidamente por métodos colorimétricos que pueden medir el calcio sérico directamente.

PRINCIPIO

Calcio + O-Creosulfataleína complexona ----->
Medio
Alcalino

Calcio – Complejo de cresulfataleína complexona (Color púrpura)

El calcio reacciona con la cresulfataleína complexona en 8-Hidroquinolona para formar un complejo coloreado (color púrpura) que se absorbe a 570 nm (550 – 580). La intensidad del color es proporcional a la concentración del calcio. Los intensificadores de color y los estabilizadores se utilizan para disminuir la interferencia de otros iones metálicos.

COMPOSICION DEL REACTIVO

Cuando se reconstituye como se indica, el reactivo para calcio contiene lo siguiente:

1. Reactivo color (A) O-Creosulfataleína complexona 0.14 nm, 8-Hidroquinolona 13 nm.
2. Buffer de Calcio: Dietalamina 363 nm, Cianuro de potasio 2 nm, ingredientes no reactivos y estabilizados en los reactivos A y B.

3. Estándar del calcio: Carbonato de calcio en ácido hidroclorehídrico diluido (10 mg/dl).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico "In Vitro".

PRECAUCION: Los reactivos para diagnóstico "In Vitro" pueden ser peligrosos. Manipúlese de acuerdo a un correcto procedimiento del laboratorio en el que se evite la ingestión y el contacto con la piel y con los ojos.

2. Reactivo (A) y (B) pueden irritar la piel. Evite el contacto.
3. Reactivo (B) contiene cianuro y no debe pipetarse con la boca.

PREPARACION DEL REACTIVO

1. Mezcle partes iguales de reactivo color para calcio (A) y buffer de calcio (B), mézclelos y déjelos en reposo por 10 minutos a temperatura ambiente antes de usarlos.
2. Los reactivos deben mezclarse en vasijas plásticas o tubos de ensayo limpios. Si el agua o la cristalería contienen calcio ello reaccionará con el reactivo. Toda la cristalería debe enjuagarse en ácido clorhídrico diluido o agua destilada antes de usarse.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Todos los reactivos deben mantenerse a temperatura ambiente (15 – 30°C).
2. La combinación de los reactivos (A) y (B) son estables por dos semanas refrigeradas y por una semana a temperatura ambiente. Mantenga los frascos bien tapados para evitar la evaporación.

DETERIORO DEL REACTIVO

El reactivo desecharse si:

1. Se presenta turbidez, lo que puede significar contaminación.
2. Falla el reactivo para mantener linealidad o falla recobrar los valores controles en el rango establecido.

RECOLECCION DE LAS MUESTRAS

1. Se utilizará suero no bemozido.
2. Otro anticoagulante que no sea heparina no debe utilizarse.
3. Separe el suero del coágulo lo antes posible puesto que los glóbulos rojos absorben el calcio.
4. No deben utilizarse muestras viejas con precipitados visibles.
5. No deben utilizarse tubos con tapas de corcho.
6. El calcio sérico es estable por 24 horas a temperatura ambiente, una semana en refrigeración (2 – 8 °C) y hasta 5 meses congelado y protegido de la evaporación.

SUSTANCIAS QUE INTERFIEREN

1. Sustancias que contengan calcio o complejos cálcicos no deben entrar en contacto con las muestras. Ejemplos: EDTA, Citrato, oxalato, y fluoruros.
2. No deben utilizarse muestras de pacientes que han recibido Bromosulfataleína o EDTA.
3. Para tener una lista de las sustancias que afectan la precisión del calcio como exámen en este procedimiento, remítase a las diferencias.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Pipetas de precisión.
2. Tubos de ensayo y portatubos.
3. Reloj.

El reactivo de calcio sirve tanto para método automatizado como manual o espectrofotométrico.

PROCEDIMIENTO MANUAL

1. Rotule tubos: blancos, estándar, control, pacientes, etc.
2. Agregue 3.0 ml de reactivo de trabajo en cada tubo
3. Agregue 0.05 ml (50 ul) de muestra a los tubos correspondientes.
4. Agregue 0.05 ml (50 ul) de estándar al tubo correspondiente.
5. Mezcle y déjelos en reposo por 60 segundos a temperatura ambiente.
6. Ajuste a cero (0) el espectrofotómetro con blanco reactivo y a 570 nm.
7. Lea y anote las absorbancias de todos los tubos. El color final es estable por 20 minutos.

*VOLUMENES ALTERNATIVOS: (Para utilizar menos reactivo de trabajo): 0.02 ml (20 ul) de muestra y 1.0 ml de reactivo. Seguir los mismos pasos planteados anteriormente.

LIMITES DEL PROCEDIMIENTO

El reactivo es lineal hasta 20 mg/dl.

1. Muestras con valores por encima de 20 mg/dl. Deben diluirse el 1:1 con solución salina, vueltos a analizar y el resultado multiplicarlo por 2.
2. Muestras lipémicas o bemozadas requieren un blanco de muestra, para preparar blanco de muestra agregue 0.05 ml (50 ul de muestra a 3.0 ml de agua destilada. Mezcle y lea contra blanco de agua a 570 nm. Reste la absorbancia obtenida de la lectura de la muestra y realice el cálculo adecuado)
3. La contaminación de la cristalería con calcio (generalmente de los detergentes afectarán negativamente la prueba. Use cristalería tratada con ácido o tubos plásticos).

CALCULOS

Abs. de la muestra x Conc. del estándar = Calcio en mg/dl.

Abs. del estándar

Ejemplo: Si la absorbancia de la muestra = 0.74
Si la absorbancia del estándar = 0.84

Prepare el reactivo. Vea PREPARACION DEL REACTIVO. Si la concentración del estándar = 10 mg/dl, entonces:

$$\frac{0.74}{0.84} \times 10 = 8.8 \text{ mg/dl}$$

Nota: Para convertir mg/dl a mEq/L, divida mg/dl, entre 2.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda incluir controles en cada corrida de exámenes. En el mercado existen controles comerciales con valores conocidos de calcio que pueden ser utilizados como control. Los valores de los mismos deben verificarse con el método señalado y si no se obtiene el rango esperado puede ello significar deterioro del reactivo, mal funcionamiento instrumental o errores de técnica.

VALORES ESPERADOS

Entre 8.5 y 10.5 mg/dl.

Niños menores de 12 usualmente tienen niveles normales más elevados que disminuyen a medida que crecen.

4. Espectrofotómetro capaz de leer a 570 nm.

INSTRUCCIONES GENERALES

Se recomienda mucho que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

CARACTERISTICAS DEL EXAMEN.

1. Linealidad: Hasta 20 mg/dl.
2. Comparación: Un estudio desarrollado entre éste método y uno comercial similar arrojó un coeficiente de correlación de 0.97 con una ecuación de regresión de $y = 0.94 + 0.53$.
3. Estudios de precisión

| <u>Valor (mg/dl)</u> | <u>Dentro de la corrida</u> | |
|----------------------|-----------------------------|--------------|
| | <u>D.S.</u> | <u>C.V.%</u> |
| 9.1 | 0.39 | 4.3 |
| 13.7 | 0.02 | 0.2 |

| <u>Valor (mg/dl)</u> | <u>De corrida a corrida</u> | |
|----------------------|-----------------------------|--------------|
| | <u>D.S.</u> | <u>C.V.%</u> |
| 9.2 | 0.21 | 2.2 |
| 13.3 | 0.32 | 2.4 |