

Calcio MonlabTest®

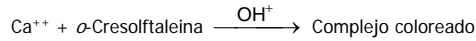


o-Cresolftaleína v/v. Colorimétrico
Determinación cuantitativa de Calcio

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La medición del calcio se basa en la formación de un complejo coloreado entre el calcio y la *o*-cresolftaleína, en medio alcalino:



La intensidad del color formado es directamente proporcional a la concentración de calcio presente en la muestra ensayada^{1,2,3}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El calcio es el mineral más abundante e importante del cuerpo humano, el 99 % se halla en los huesos.

Una disminución de los niveles de albúmina causa una disminución del calcio en suero. Niveles bajos de calcio pueden atribuirse a hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, déficit de vitamina D, malnutrición o mala absorción. La mayoría de las causas de hipercalcemia son debidas a enfermedades oncológicas, intoxicación por vitamina D, aumento de la retención renal, osteoporosis, sarcosidosis, tirotoxicosis e hiperparatiroidismo^{1,6,7}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

| | | |
|-------------------|----------------------------------|-------------|
| R 1 | Etanolamina | 500 mmol/L |
| Tampón | Cloroformo | 15 mmol/L |
| | Metanol | 5700 mmol/L |
| R 2 | <i>o</i> -Cresolftaleína | 0,62 mmol/L |
| Cromógeno | 8-Hidroxiquinoleína | 69 mmol/L |
| CAL CALCIO | Patrón primario acuoso de Calcio | 10 mg/dL |

PRECAUCIONES

R1: H302+H312+H332-Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. H314- Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H370-Provoca daños en los órganos.

R2: H290-Puede ser corrosivo para los metales. H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

CAL: H290-Puede ser corrosivo para los metales.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

Los reactivos y calibrador están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 570 nm $\geq 0,22$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 570 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio (Nota 2,3).

MUESTRAS

- Suero o plasma¹: Separado lo antes posible de los hematíes. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que son fuertes quelantes de calcio.

- Orina¹: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de calcio. Antes de la recogida, adicionar al contenedor 10 mL de ácido nítrico al 50% (v/v). Anotar el volumen.

Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: El calcio es estable 10 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 570 nm (550-590)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta (Nota 5)

| | Blanco | Patrón | Muestra |
|------------------------|--------|--------|---------|
| R1 (mL) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| R2 (mL) | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Patrón (Nota 1,4) (µL) | -- | 20 | -- |
| Muestra (µL) | -- | -- | 20 |

- Mezclar e incubar 5 minutos a (15-25°C) / 37°C.
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 40 minutos.

CÁLCULOS

Suero o plasma

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 10 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de calcio en la muestra}$$

Orina 24 h

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 10 (\text{Conc. Patrón}) \times \text{vol. (dL) orina/24 h} = \text{mg/24h de calcio en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,25 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL Normal y Patológico (MO-165107 y MO-165108).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

| | | |
|----------------|-----------------|--------------------------|
| Adultos | 8,5-10,5 mg /dL | \cong 2,1-2,6 mmol/L |
| Niños | 10-12 mg/dL | \cong 2,5-3,0 mmol/L |
| Recién nacidos | 8-13 mg/dL | \cong 2,00-3,25 mmol/L |

Orina:

| | | |
|---------|----------------|-----------------------------|
| Adultos | 50-300 mg/24 h | \cong 1,25-7,50 mmol/24 h |
| Niños | 80-160 mg/24 h | \cong 2,00-4,00 mmol/24 h |

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,07 mg/dL hasta el límite de linealidad de 35 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

| | Intraserie (n= 20) | | Interserie (n= 20) | |
|---------------|--------------------|-------|--------------------|-------|
| Media (mg/dL) | 9,14 | 16,02 | 9,34 | 16,27 |
| SD | 0,07 | 0,11 | 0,20 | 0,37 |
| CV (%) | 0,74 | 0,68 | 2,16 | 2,27 |

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,044 (A).

Exactitud: Los reactivos MonlabTest (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,981.

Ecuación de la recta de regresión: y = 0,8234x + 1,5484.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Triglicéridos $\leq 1,25$ g/L, no interfieren^{1,2,3}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del calcio^{4,5}.

NOTAS

- CAL CALCIO: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso. Si se usa material de vidrio se deberá lavar con ácido nítrico diluido con agua (1/2), enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- MONLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8): 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3): 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

| | |
|-----------|----------------|
| MO-165076 | R1: 1 x 125 mL |
| | R2: 1 x 125 mL |
| | CAL: 1 x 5 mL |

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

| | | | |
|--|-----------------------------------|--|------------------------------------|
| | Fabricante | | Uso de diagnóstico <i>in vitro</i> |
| | No reutilizar | | Consultar las instrucciones de uso |
| | Contiene suficiente para <n> test | | Mantener seco |
| | Código | | Límite de temperatura |
| | Número de lote | | Fecha de caducidad |



Calcium MonlabTest®

o-Cresolphthalein v/v. Colorimetric

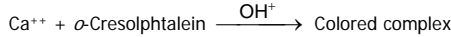


Quantitative determination of calcium

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 2-8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The measurement of calcium in the sample is based on formation of color complex between calcium and o-cresolphthalein in alkaline medium:



The intensity of the colour formed is proportional to the calcium concentration in the sample^{1,2,3}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Calcium is the most abundant and one of the most important minerals in the human body. Approximately 99% of body calcium is found in bones. A decrease in albumin level causes a decrease in serum calcium.

Among causes of hypercalcemia are cancers, large intake of vitamin D, enhanced renal retention, osteoporosis, sarcoidosis, thyrotoxicosis, hyperparathyroidism.

Low levels of calcium are found in hypoparathyroidism, pseudohypoparathyroidism, vitamin D deficiency, malnutrition and intestinal malabsorption^{1,6,7}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

| | | |
|-----------------|----------------------------------|-------------|
| R1 Buffer | Ethanolamine | 500 mmol/L |
| | Chloroform | 15 mmol/L |
| | Methanol | 5700 mmol/L |
| R2 Chromogen | o-Cresolphthalein | 0.62 mmol/L |
| | 8-Hidroxyquinolein | 69 mmol/L |
| CALCIUM CAL | Calcium aqueous primary standard | 10 mg/dL |

PRECAUTIONS

R1: H302+H312+H332-Harmful if swallowed, in contact with skin or inhaled. H314-Causes severe skin burns and eye damage. H370-Causes damage to organs.

R2: H290-May be corrosive to metals. H314-Causes severe skin burns and eye damage.

CAL: H290-May be corrosive to metals.

Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

All the reagents are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 570 nm \geq 0.22.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 570 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment (Note 2,3).

SAMPLES

- Serum or plasma¹: Separated from cells as rapidly as possible. Blood anticoagulants with oxalate or EDTA are not acceptable since these chemicals are strong calcium chelators.

- Urine¹: Collect 24 hour urine specimen in calcium free containers. The collecting bottles should contain 10 ml of diluted Nitric acid (50% v/v). Record the volume.

Dilute a sample 1/2 in distilled water. Mix. Multiply results by 2 (dilution factor).

Stability of the samples: Calcium is stable 10 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 570 nm (550-590)
Cuvette:1 cm. light path
Temperature 37°C / 15-25°C

2. Adjust the instrument to zero with distilled water.

3. Pipette into a cuvette: (Note 5)

| | Blank | Standard | Sample |
|--------------------------|-------|----------|--------|
| R1 (mL) | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| R2 (mL) | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Standard (Note 1,4) (µL) | -- | 20 | -- |
| Sample (µL) | -- | -- | 20 |

4. Mix and incubate for 5 minutes at (15-25°C) / 37°C.

5. Read the absorbance (A) of the samples and standard, against the Blank. The color is stable for at least 40 minutes.

CALCULATIONS

Serum and plasma

$$\frac{(A)\text{Sample} - (A)\text{Blank}}{(A)\text{Standard} - (A)\text{Blank}} \times 10 \text{ (Standard conc.)} = \text{mg/dL calcium in the sample}$$

Urine 24 h

$$\frac{(A)\text{Sample} - (A)\text{Blank}}{(A)\text{Standard} - (A)\text{Blank}} \times 10 \text{ (Standard conc.)} \times \text{vol. (dL urine)/24h} = \text{mg/24h calcium}$$

Conversion factor: mg/dL x 0.25 = mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: CONTROL Normal and Pathologic (MO-165107 and MO-165108).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

Serum or plasma:

| | | |
|----------|-----------------|---------------------------|
| Adults | 8.5-10.5 mg /dL | \cong 2.1-2.6 mmol/L |
| Children | 10 -12 mg/dL | \cong 2.5-3.0 mmol/L |
| Newborns | 8 -13 mg/dL | \cong 2.00- 3.25 mmol/L |

Urine:

| | | |
|----------|-----------------|------------------------------|
| Adults | 50 - 300 mg/24h | \cong 1.25 - 7.50 mmol/24h |
| Children | 80 -160 mg/24h | \cong 2.00 - 4.00 mmol/24h |

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0,07 mg/dL to linearity limit of 35 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

| Mean (mg/dL) | Intra-assay (n=20) | | Inter-assay (n=20) | |
|--------------|--------------------|-------|--------------------|-------|
| | 9.14 | 16.02 | 9.34 | 16.27 |
| SD | 0.07 | 0.11 | 0.20 | 0.37 |
| CV (%) | 0.74 | 0.68 | 2.16 | 2.27 |

Sensitivity: 1 mg/dL = 0.044 A.

Accuracy: Results obtained using MonlabTest reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0.981.

Regression equation: y=0.8234x + 1.5484.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

No interferences were observed with triglycerides up to 1.25 g/L^{1,2,3}.

A list of drugs and other interfering substances with calcium determination has been reported^{4,5}.

NOTES

- CALCIUM CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- It is recommended to use disposable material. If glassware is used the material should be scrupulously cleaned with diluted 1/2 HNO₃ in water and then thoroughly rinsed it with distilled water.
- Most of the detergents and water softening products used in the laboratories contain chelating agents. A defective rinsing will invalidate the procedure.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- MONLAB has instruction sheets for several automatic analyzers.**

BIBLIOGRAPHY

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem Vol 10, No 8 1964: 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path Vol 45, No 3 1996; 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PACKAGING

MO-165076

R1: 1 x 125 mL
R2: 1 x 125 mL
CAL: 1 x 5mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

| | | | |
|--|-----------------------------------|--|---|
| | Manufacturer | | For <i>in vitro</i> diagnostic use only |
| | Don't re-use | | Consult instructions for use |
| | Contains sufficient for <n> tests | | Keep dry |
| | Catalogue Code | | Temperature limitation |
| | Lot Number | | Use by |

