

COD 11795 50 mL
CONSERVAR A 2-8°C
Reactivos para medir la concentración de Citrato. Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico.

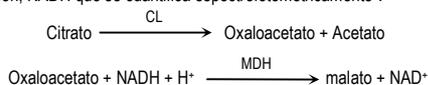
CITRATE



CITRATO
CITRATO LIASA/MALATO DESHIDROGENASA

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El citrato presente en la muestra consume, según las reacciones acopladas descritas a continuación, NADH que se cuantifica espectrofotométricamente!



CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

- A. Reactivo. 1 x 40 mL. Tris 40 mmol/L, NADH 0,4 mmol/L, conservantes, pH 9,5.
 B1. Reactivo. 1 x 10 mL. PIPES 600 mmol/L, conservantes, pH 6,5.
Irritante (Xi): R43: Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel. S36/37: Usen indumentaria y guantes de protección adecuados.
 B2. Reactivo. 1 para 10 mL. Malato deshidrogenasa > 40 KU/L, citrato liasa > 1 KU/L, una vez reconstituido.
 S. Patrón citrato. 1 x 3 mL. Ácido cítrico 100 mg/dL equivalente a 500 mg/dL (26 mmol/L) de citrato teniendo en cuenta el factor de dilución de la muestra. Patrón primario acuoso.
Irritante (Xi): R43: Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel. S36/37: Usen indumentaria y guantes de protección adecuados.

CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco inferior a 1,2 a 340 nm (cubeta de 1 cm).
- Patrón: Presencia de partículas, turbidez.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El reactivo A está listo para su uso.

Reactivo B: Preparar un reactivo de trabajo reconstituyendo el Reactivo B2 con el contenido del vial de Reactivo B1. Agitar suavemente. Estable 2 meses a 2-8°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 340 ± 20 nm.

MUESTRAS

Incubar el esperma recién obtenido a 37 °C durante 30 minutos, tiempo necesario para su licuefacción. Centrifugar, para separar los espermatozoides y recoger el sobrenadante, plasma seminal². El citrato es estable en el plasma seminal 6 meses a -20 °C.

PROCEDIMIENTO

Preparación de la muestra

El patrón no requiere tratamiento previo.

- Pipetear en un tubo de ensayo:

Plasma seminal	200 µL
Agua desionizada	800 µL

- Agitar ligeramente. La muestra es estable 8 horas a 15-25°C, 24 horas a 2-8°C.

Procedimiento manual

- Atemperar los reactivos a temperatura ambiente.
- Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Agua desionizada	20 µL	—	—
Patrón Citrato (S)	—	20 µL	—
Muestra	—	—	20 µL
Reactivo A	1,2 mL	1,2 mL	1,2 mL
Reactivo B	300 µL	300 µL	300 µL

- Mezclar bien e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente (16-25°C) o 5 minutos a 37°C.
- Leer la absorbancia (A) del Patrón, de la Muestra y del Blanco a 340 nm. El color es estable durante al menos 30 minutos.
- Calcular la concentración de citrato usando la siguiente fórmula:

$$\frac{A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco}}}{A_{\text{Patrón}} - A_{\text{Blanco}}} \times 500 = \text{mg/dL citrato}$$

$$\times 26,1 = \text{mmol/L citrato}$$

Procedimiento automatizado (Nota 1)

	A25	A15	
GENERAL	Técnica Modo de análisis Tipo de muestra Unidades Tipo de reacción	CITRATO Diferencial bir - mg/dL decreciente	CITRATO Diferencial bir - mg/dL decreciente

	Decimales Nº Replicados Nombre de la técnica en el informe de paciente	0 1 -	0 1 -	
PROCEDIMIENTO	Lectura	monocromática	monocromática	
Volúmenes	Muestra	4	4	
	Reactivo 1	240	240	
	Reactivo 2	60	60	
	Lavado	1,2	1,2	
	Factor predilución	-	-	
	Factor postdilución	2	2	
	Filtros	Principal	340	340
		Referencia	-	-
		Lectura 1	75 s	72 s
	Tiempos	Lectura 2	390 s	384 s
Reactivo 2		90 s	96 s	
CALIBRACIÓN	Tipo de calibración	específico	específico	
Replicados calibrador	Replicados calibrador	3	3	
	Replicados blanco	3	3	
	Curva de calibración	-	-	
	OPCIONES	Límite absorbancia blanco	1,2	1,2
	Límite blanco cinético	-	-	
	Límite de linealidad	1250	1250	

VALORES DE REFERENCIA

Plasma seminal: > 300 mg/dL = 15,6 mmol/L³

> 10 mg/eyaculado = 52 µmol/eyaculado⁴

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

Los datos siguientes se obtuvieron usando un analizador A25. Los resultados son similares a los del A15. Los detalles sobre los datos de evaluación están disponibles bajo solicitud.

– Límite de linealidad: 1250 mg/dL = 65 mmol/L. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra tratada 1/2 con agua destilada y repetir la medición.

– Límite de detección: 19 mg/dL = 1,0 mmol/L

– Repetibilidad (intraserie):

Concentración media	CV	n
200 mg/dL = 10,4 mmol/L	2,5 %	20
750 mg/dL = 39,0 mmol/L	1,1 %	20

– Reproducibilidad (interserie):

Concentración media	CV	n
200 mg/dL = 10,4 mmol/L	3,8 %	25
750 mg/dL = 39,0 mmol/L	3,3 %	25

– Veracidad: Los resultados obtenidos con este procedimiento no mostraron diferencias sistemáticas cuando se compararon con un procedimiento de referencia. Los detalles de los experimentos de comparación están disponibles bajo solicitud.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La finalidad del examen bioquímico en el plasma seminal es la determinación de la funcionalidad de los órganos relacionados con la producción de esperma. El citrato es producido por la próstata y está presente en el plasma seminal. El citrato es el anión principal de la postrata y desempeña un papel importante como quelante de iones. La medición de su concentración en plasma seminal se utiliza como marcador determinante de la función secretora de la glándula prostática. Valores bajos indican una alteración anómala de la función secretora de la glándula, posiblemente como consecuencia de la obstrucción de los conductos debido a una inflamación de carácter agudo o crónico.^{3,4}

NOTAS

- Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.

BIBLIOGRAFÍA

- Möllering, H. & Gruber, W. Determination of citrate with citrate lyase. *Anal.Biochem.* 1966; 17: 369-376.
- Poirot C, Cherruau. Infertilidad masculina. Aspectos clínicos e investigaciones biológicas. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2005; 39: 225-241.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge university press, 4th ed, 1999.