

## FINALIDADE

Sistema colorimétrico para determinação do cálcio no soro, plasma e urina.

**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

## PRINCÍPIO

O cálcio presente na amostra reage com o arsenazo III, originando um complexo corado (cálcio-arsenazo III), cuja intensidade de cor é diretamente proporcional ao teor de cálcio na amostra.

## PARTICULARIDADES DO SISTEMA

O kit Doles de Cálcio Arsenazo é monoreagente, já pronto para uso. A presença de 8-Hidroxiquinoleína elimina a interferência causada por íons magnésio. Não há igualmente interferência de proteínas plasmáticas.

O sistema é aplicável em sistemas automáticos e semiautomáticos.

## METODOLOGIA

Arsenazo III.

## REAGENTES

**Reagente de cor:** Contém tampão 75mmol/L, pH 6,8 Arsenazo III 0,21mmol/L, 8-Hidroxiquinoleína 5mmol/L, azida sódica 0,05% e surfactantes.

**Solução Padrão:** Solução aquosa 10mg/dL de Cálcio.

## APRESENTAÇÃO

Reagente de Cor 2 x 50mL  
Solução Padrão 1 x 4mL

## Número de Testes:

Manual  
100 testes / 10µL de soro  
50 testes / 20µL de soro

Automático (\*) 300 testes

(\*) A quantidade de testes na automação é variável de acordo com o equipamento.

**Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.**

## EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro capaz de medir a absorvância em 670nm.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipeta semiautomática 20/10µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Pera para pipetagem.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**Reagente de cor:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**Solução padrão 10mg/dL:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

**A estabilidade do reagente está estritamente relacionada com os critérios de manuseio. Os reagentes, no decorrer do uso, estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem comprometer a estabilidade do produto.**

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Devem ser manuseados com cuidado, evitando contato com pele e mucosas. **Usar pera de pipetagem.** Havendo contaminação acidental lavar a parte afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

## AMOSTRA

### • Sangue

Soro ou plasma (heparina). O sangue deve ser colhido sem estase venosa para evitar variações na concentração de cálcio ligado a proteínas. Separar o soro ou plasma imediatamente. O analito é estável até 14 dias entre 2 a 8°C e 4 semanas a 10°C negativos.

### • Urina

A coleta da urina de 24 horas deve ser feita em frasco contendo 10mL de ácido clorídrico p.a.. Centrifugar a amostra de urina antes da realização do ensaio.

Quando da dosagem do cálcio urinário em urina de 24 horas não acidificada durante a coleta, deve se acidificar a urina a pH 1-2 (1 a 2 gotas de Ácido Clorídrico p.a. para 5mL de urina de 24 horas devidamente homogeneizada).

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**

## PROCEDIMENTO TÉCNICO

Para amostras de urina centrifugar antes do ensaio e verificar se a mesma esta acidificada conforme instruções mencionadas no item "Amostra" desta instrução de uso.

Rotular 3 tubos de ensaio com **B (branco)**, **T (teste)** e **P (padrão)**.

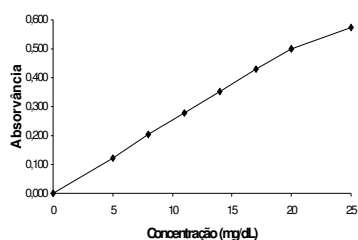
Atenção! O reagente de cor deve estar a temperatura ambiente (20 a 30°C) no momento da realização do ensaio.

**Proceder como segue:**

	B	P	T
Solução Padrão	-	20µL	-
Amostra	-	-	20µL
Reagente de Cor	2,0mL	2,0mL	2,0mL

Homogeneizar aguardar 2 minutos à temperatura ambiente (20 a 30°C). Selecionar o comprimento onda de 670nm, zerar o aparelho com o **branco (B)** e ler as absorvâncias de **teste (T)** e **padrão (P)**.

## CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mg/dL)
0	0,000	0,000
5	0,124	4,9
8	0,202	8,0
11	0,279	11,1
14	0,351	13,9
17	0,430	17,1
20	0,499	19,8
25	0,575	22,8

**Obs.: A curva de calibração ilustra a linearidade do Kit. Não deve ser utilizada para determinação do resultado de ensaio.**

- A curva de calibração é a representação gráfica da relação entre os valores das absorvâncias com os valores das concentrações de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos para confeccioná-la: (1) preparo das soluções padrão; (2) medição dos valores de absorvância das soluções padrão, de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso, e (3) montagem de um gráfico, em papel especial, linear, onde são relacionados os valores de absorvância com os de concentração, conforme demonstrado na figura acima. As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro, no comprimento de onda de 670nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.
- A curva de calibração demonstra a linearidade da reação até concentração de cálcio de 20mg/dL, bastando usar um fator de calibração (F), de acordo com a Lei de Beer.
- A reação é linear até 20mg/dL (ver curva acima). Obtendo-se valores mais elevados, dilui-se (1:2 ou 1:4) a amostra com água deionizada e procede-se à nova dosagem. A diluição deve apresentar um valor situado entre 8 e 12mg/dL. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**
- O kit de Cálcio Arsenazo Doles possui padrão no intervalo de linearidade da metodologia adotada. O laboratório deve realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit e calcular seu fator de calibração (F), de acordo com o exemplo estabelecido nos cálculos.**
- O fator deverá ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.**

### CÁLCULOS

Para avaliação do resultado é imprescindível verificar se o mesmo encontra-se dentro da faixa linear que é de até 20mg/dL. Obtendo-se valores mais elevados, dilui-se (1:2 ou 1:4) a amostra com água deionizada e procede-se à nova dosagem. A diluição deve apresentar um valor situado entre 8 e 12mg/dL. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.

**Determinação do cálcio no soro, plasma (heparinizado) ou urina**

$$Ca \text{ (mg/dL)} = \text{absorvância teste} \times \text{Fator}$$

**Exemplo:**

Leituras:

Padrão (P) = 0,252

Teste (T) = 0,310

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = \frac{0,310}{0,252} \times 10 = 12,3$$

Como a reação corada segue estritamente a lei de Beer, basta que se determine um **fator (F)** para cálculo dos resultados.

$$\text{Fator (F)} = \frac{10}{\text{absorvância}}$$

**Cálcio (mg/dL) = absorvância teste x F**

Para a obtenção do fator, recomenda-se dosar em triplicata o padrão, ler as absorvâncias e tirar a média aritmética das mesmas.

**Exemplo:**

Leituras:

Padrão (P) = 0,253, 0,251, 0,252

Teste (T) = 0,310

$$\text{Média aritmética} = \frac{0,253 + 0,251 + 0,252}{3} = 0,252$$

$$\text{Fator (F)} = \frac{10}{0,252} = 39,68$$

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = 0,310 \times 39,68 = 12,30$$

### DETERMINAÇÃO DO CÁLCIO IONIZADO

O cálcio ionizado pode ser determinado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Cálcio ionizado (mg/dL)} = \frac{6 \times Ca - [A + (0,19 \times Pt) / 3]}{A + (0,19 \times Pt) + 6}$$

Ca = Cálcio mg/dL

Pt = Proteínas totais (g/dL)

A = Albumina (g/dL)

Dosar as proteínas totais (g/dL), a albumina (g/dL) e o cálcio (mg/dL) da amostra. Calcular conforme exemplo a seguir:

**Exemplo:**

Ca = 10mg/dL

Pt = 7 g/dL

A = 4 g/dL

$$\text{Cálcio ionizado (mg/dL)} = \frac{6 \times 10 - [4 + (0,19 \times 7) / 3]}{4 + (0,19 \times 7) + 6}$$

$$\text{Cálcio ionizado} = 4,9 \text{ mg/dL}$$

**O cálcio ionizado (livre) deve ser dosado, preferencialmente, utilizando-se o sistema de eletrodo seletivo para íon cálcio. Diversos equipamentos para tal finalidade encontram-se disponíveis no mercado.**

### DETERMINAÇÃO DO CÁLCIO URINÁRIO

$$\text{Cálcio urina de 24hs} = Ca \text{ (mg/dL)} \times \frac{\text{volume urinário 24hs (mL)}}{100}$$

**Exemplo:**

Ca (mg/dL) = 10mg/dL

Volume urinário (mL) = 1500mL

$$\text{Cálcio urina de 24hs} = 10 \times \frac{1500}{100} = 150 \text{ mg/24hs}$$



## EXPRESSIONÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

Cálcio (mmol/L) = Cálcio (mg/dL) x 0,25

### LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá provocar resultados errôneos.
- Acetaminofen, antiácidos contendo cálcio, anticoncepcionais orais e tiazidas causam interferência, levando a resultados elevados.
- O uso de aspirina, corticoesteroides, difenilhidantoína, diuréticos, laxantes em excesso e sulfonamidas pode levar a valores diminuídos de cálcio sérico.
- A recuperação em algumas amostras de plasma podem ser superior a esperada com soro.
- Devido ao aumento da permeabilidade das hemácias ao cálcio, a separação do soro ou plasma deve ser feita até uma hora após a colheita.

### CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada na limpeza do material, deve ser de boa qualidade.
3. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, aminas e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
4. As pipetagens devem ser precisas.
5. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).
6. A causa mais comum de erro e deterioração do reagente é a contaminação da vidraria por sais de cálcio. Recomenda-se utilizar tubo descartáveis e na impossibilidade para tal, toda a vidraria deve ser lavada apenas com detergentes não iônicos e, posteriormente, com solução de ácido nítrico 50% (v/v). Enxaguar várias vezes com água deionizada.

### VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida. Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

#### • Soro

#### Cálcio Total (mg/dL)

Cordão umbilical <sup>7</sup>	8,2 a 11,2
Prematuros <sup>7</sup>	6,2 a 11,0
0 a 10 dias <sup>7</sup>	7,6 a 10,4
10 dias a 24 meses <sup>7</sup>	9,0 a 11,0
2 a 12 anos <sup>7</sup>	8,8 a 10,8
Adultos <sup>8</sup>	8,8 a 11,0

#### Cálcio ionizado (mg/dL)

1 a 18 anos <sup>7</sup>	4,80 a 5,52
Adultos (> 18 anos) <sup>7</sup>	4,64 a 5,28

#### • Urina (mg/24hs)

A excreção de cálcio urinário depende da dieta, a saber:

Dieta livre de cálcio <sup>7</sup>	5 a 50
Dieta restrita de cálcio <sup>7</sup>	50 a 150
Dieta (800mg/dia de cálcio) <sup>7</sup>	100 a 300

## SIGNIFICADO CLÍNICO

Podemos distinguir alterações nos níveis séricos de cálcio em vários processos patológicos.

A hipercalemia é observada nas seguintes condições: hiperparatireoidismo, uso de certos diuréticos (tiazidas), hipervitaminose D, mieloma múltiplo, osteosarcoma e nas metástases osteolíticas de carcinomas.

A hipocalcemia é registrada no hipoparatiroidismo, deficiência de vitamina D (raquitismo e osteomalacia), nas síndromes que cursam com hipomagnesemia e, por vezes, na gravidez.

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados ensaios em 71 amostras em paralelo com uma metodologia de referência. A comparação do kit de Cálcio Arsenazo Doles (Y) com um kit similar, deu origem à seguinte equação de regressão linear:  $0,73 + 0,957X$ .

**Repetitividade:** foram realizadas 20 dosagens sucessivas, em três amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

Parâmetros	AMOSTRA 01	AMOSTRA 02	AMOSTRA 03
Média	8,80	10,80	12,11
Desvio Padrão	0,14	0,21	0,34
CV%	1,59	1,94	2,81

As variações obtidas encontram-se diretamente relacionada com as condições técnicas utilizadas para a realização do ensaio.

**Reprodutibilidade:** foram realizados 20 ensaios em dias alternados de três amostras distintas.

Parâmetros	AMOSTRA 01	AMOSTRA 02	AMOSTRA 03
Média	9,53	9,78	12,34
Desvio Padrão	0,39	0,28	0,48
CV%	4,06	2,88	3,86

As variações obtidas encontram-se diretamente relacionada com as condições técnicas utilizadas para a realização do ensaio.

**Especificidade:** a presente metodologia é específica para determinação de íons Cálcio. A presença de 8-Hidroxiquinoleína no reagente impede a interferência do magnésio na dosagem.

**Sensibilidade:** A presente metodologia é específica para determinação de cálcio no soro, plasma e urina. A absorvância de 0,001 corresponde a uma concentração de 0,03mg/dL de Cálcio, quando medida em espectrofotômetro, em 670nm e 10mm de passagem de luz.

A sensibilidade do sistema está estritamente relacionada com a sensibilidade do aparelho utilizado na leitura.

**Diluição da matriz:** estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que não há interferência na sensibilidade diagnóstica da presente metodologia.

#### Substâncias interferentes:

- A presença de sais de cálcio na vidraria utilizada, poderão levar a resultados falsamente elevados.
- Os anticoagulantes EDTA, oxalato, fluoreto e citrato interferem, devido a formação de complexos estáveis com o cálcio. Esta interação resulta em resultados falsamente diminuídos.
- Bilirrubina até 20mg/dL não interfere na metodologia.
- Amostras hemolisadas (hemoglobina 250mg/dL) e hipertrigliceridemia (1000mg/dL) interferem.



- Avaliação da concentração de Hemoglobina em uma amostra hemolisada:  
1-Adicionar 50µL da amostra em 2,0mL de solução fisiológica.  
2-Ler a absorvância em 405 ou 415nm. Zerar o aparelho com água deionizada ou destilada.  
Hb (mg/dL) Absorvância<sub>405</sub> x 601  
Hb (mg/dL) Absorvância<sub>415</sub> x 467
- Certas drogas podem alterar os níveis de cálcio (ver em limitações do sistema). Para controle de tal interferência, recomenda-se que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos.
- A recuperação em algumas amostras de plasma podem ser superior a esperada com o soro.

#### **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA**

- 1.Connerty H.V. & Briggs A. R.: *Amer J.Clin.Path*: 45:290; 1966.
- 2.Gitelman H. J.: *Anal. Biochem.* 18:521; 1967.
- 3.Martinek, R.G.: *J. Am. Med. Techn.* 33:416; 1971.
- 4.Meites, S., Faulkner. W.R.: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, vol. 09, 125-129, 1981.
- 5.Kaplan. L. A., Pesce. A. J.: *Química Clínica Métodos*, 1014 - 1031, 1990.
- 6.Tibúrcio, H.M.: *Controle Interno da Qualidade Analítica*, 1ªed. março/1995.
- 7.Burtis, C.A., Ashwood, E.R.: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3ª ed. 1999.
- 8.Henry, J.B.H.: *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20ª ed. 2001.
- 9.Doles: dados de arquivo.

#### **TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO**

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- 1.O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

**Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda  
CNPJ: 01.085.513/0001-05  
Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07 Chácara Retiro  
CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil  
Caixa Postal 1051  
e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810091

Revisão: 04 (08/2009)

#### **NBR ISO 9001**

**Sistema da Qualidade  
certificado desde 1999**

