



## QUIMICAL - Cálcio Arsenazo III

### Finalidade:

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de cálcio em amostras de soro, plasma e urina humanas. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

### Princípio:

O Arsenazo III foi modificado a fim de fornecer alta sensibilidade e um sistema de reagente estável. O cálcio reage com o Arsenazo III em um meio levemente alcalino para formar o complexo de cor púrpura. A intensidade de cor é proporcional à concentração do cálcio quando medido em 650 nm. Temos então a seguinte reação:  
Meio alcalino

Cálcio + Arsenazo III -----> Complexo Cálcio Arsenazo

### Metodologia:

Arsenazo III

### Significado Clínico:

Fatores múltiplos, de natureza endócrina, renal, gastrointestinal e metabólica contribuem para proporcionar uma regulação muito sensível do teor de cálcio no plasma e em outros líquidos corporais. Dependendo da atuação da vitamina D, a absorção intestinal do cálcio pode ser aumentada, no mesmo sentido o hormônio da paratireoide pode intervir nessa absorção. Este hormônio interfere ainda no nível da calcemia por reduzir a excreção renal do cálcio (aumento da reabsorção tubular) e provocar a reabsorção óssea, isto é, mobilização do cálcio a partir de seus depósitos nos ossos. Existe ao que parece, uma relação recíproca entre cálcio e fósforo. Todo aumento de fósforo no soro causa diminuição do cálcio por um mecanismo ainda não bem compreendido. O melhor exemplo desta situação é o aumento da fosfatemia na insuficiência renal, do que resulta hipocalcemia.

O aumento do cálcio no soro pode ser observado no hiperparatireoidismo, intoxicação de vitamina D, mieloma múltiplo e algumas doenças neoplásicas de ossos. A diminuição do cálcio no soro pode ser observada em hipoparatiroidismo, deficiência de vitamina D e nefrite.

### Reagentes:

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 25 °C. Contém: Arsenazo III 0,2 mmol/L, Tampão imidazol 100 mmol/L, surfactante e ázida sódica 0,05% em pH 6,8 ± 0,1. Padrão (cód. 3008): Conservar entre 2 - 25°C. Solução aquosa com concentração de cálcio rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 20 dias.

Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

### Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém ázida sódica como conservante (0,05%). Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco o que indica contaminação do reagente.

### Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorvância em 650 nm (600 - 660nm).
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Calibrador e soros controle.
6. Medidor de tempo.

### Amostra:

É recomendável soro livre de hemólise e plasma apenas obtido com heparina. É aconselhável que o soro seja o mais rápido possível separado do coágulo. O cálcio no soro é estável por 7 dias se mantido entre 2 - 6°C. A amostra poderá ser congelada (-20°C) por 5 meses quando vedada.

Urina: Colhe-se urina 24 horas, em frasco contendo HCl a 50%, 20 mL por litro de urina; manter a urina em local fresco durante a colheita. Deve ser diluída. É recomendada uma diluição de 1:2. Amostras de urina são estáveis por 7 dias a 4°C. Todas as amostras e controles são considerados potencialmente

infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

### Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

### Interferências:

Bilirrubina até 24,3 mg/dL, lipemia até 1020 mg/dL medida como triglicérides e hemoglobina até 300 mg/dL não interferem significativamente no resultado.

Contaminação da vidraria com cálcio poderá afetar os resultados dos testes. Vidros lavados com ácido ou tubos de ensaio de plástico são recomendados.

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do Cálcio, sugerimos consultar Young et al.

### Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C  
Comprimento de Onda: 650nm (600 - 660nm)  
Tipo de Reação: Ponto final  
Direção: Crescente  
Relação Amostra/Reativo: 1:50  
Vol. Amostra: 20 µL  
Vol. Reagente: 1,0 mL  
Tempo de Incubação: 2 minutos

### Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram Cód.7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit do código 3008. A concentração de cálcio no calibrador e no padrão são rastreáveis ao método de referência proposto pelo CLSI.

### Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

### Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	20 µl	-	-
Padrão	-	20µL	-
Amostra/S.C.	-	-	20µL
Reagente	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 2 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

3. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 650 nm (600 - 660nm), proceder as leituras registrando as absorvâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

Nota: a cor final é estável por 60 minutos.

\* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0,02 mL (20 µL) de amostra a 1,0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorvância contra água. Subtraia este valor da absorvância do paciente para obter a leitura corrigida.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

### Cálculos:

(Abs. = Absorvância)  
(Conc. = Concentração)

$$\text{Cálcio Amostra (mg/dL)} = \frac{\text{Abs. amostra}}{\text{Abs. padrão}} \times \text{Conc. do padrão (mg/dL)}$$

Cálculo para Urina de 24 horas:  
Urina = Cálcio amostra (mg/L) X fator diluição X Volume (L)

### Exemplo:

Abs. da amostra = 0,81  
Abs. do padrão = 0,80  
Conc. do padrão = 10 mg/dL  
Volume urinário 24 hs = 1,25L  
OBS: mg/L = mg/dl x 10

Cálcio Amostra = (0,81 / 0,80) x 10 = 10,1 mg/dl  
Cálcio Amostra = 10,1 mg/dl = 101 mg/L

Cálcio na Urina = 101 x 2 x 1,25  
Cálcio na Urina = 253 mg/24hs

### Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 15 mg/dL.

Amostras com valores superiores a 15 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0,2 e 15 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

### Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e

ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

### Valores Esperados:

Adultos: 8,5 - 10,4 mg/dL  
Recém nascidos: 7,8 - 11,2 mg/dL  
Urina: 100 - 300 mg/24 h

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

### Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados estatísticos:

Número de Amostras:	30
Intervalo dos resultados:	8,7 - 14,7mg/dL
Coefficiente de Correlação:	0,98
Inclinação:	1,1
Intercepta:	0,23 (mg/dL)

### Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis de soro (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	10,4	12,2
D.P. (mg/dL)	0,39	0,17
C.V. (%)	3,8	1,4

### Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	10,1	12,3
D.P. (mg/dL)	0,4	0,4
C.V. (%)	4,0	3,3

### Sensibilidade Metodológica:

0,2 mg/dL

### Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

### Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq 1$  mega ohm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  megaohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

### Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 10 x 10mL + 1 x 1,0mL  
Linha Hitachi 917: 3 x 65mL  
Linha Bulk: 1 x 500mL  
Linha Quimicat: 2 x 45mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

### Referência Bibliográfica:

1. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia p 149 (1984).
2. Henry J.B. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Philadelphia., W.B Saunders, p. 149 (1984).
3. Cell, J.P. et al. N.B.S., Sp., Publication 260:36 (1972)
4. Gindler, E.M and King, J.D. Am. J. Clin. Path. 58:376 (1972)
5. Connerly, H.V. and Biggs., A.R. Am.J. Clin. Path. 45:290 (1966)
6. Gitelman, H.J., Anal. Biochem. 18:621 (1967)
7. Baginald, E.S., St et al. Clin. Chem. Aota 46:49 (1973)
8. Richterich, R., Clinical Chemistry: Theory and Practice, New York, Academic Press, p.304 (1969)
9. Henry, R.J., et al. Clinical Chemistry, Principles and Technics Hagerstown (MD), Harper and Row, p.689 (1974)
10. Young, D.S., et al. Clin. Chem. 21:1D (1976).
11. Tietz, N.W., Fundamental of Clinical Chemistry, Philadelphia, WE, Saunders, p. 1206 (1984)
12. Meltes, Samuel, Pediatric Clinical Chemistry, Washington DC, AACC Press, p. 81 (1989).
13. Miller, O., Gonçalves,R.R.,Laboratório para o Clínico, 8 ed.,Atheneu,(1998).
14. Arquivos da EBRAM

