

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICAL - CÁLCIO	Página 1 de 4 POP BIOxxx/xx
-------------------------------	--	--------------------------------

USO

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de cálcio em amostras de soro, plasma e urina humanos. 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 á concentração do cálcio quando medido em 650nm. 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 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.

PRODUTO UTILIZADO

Quimical – Calcio MS: 10159820242

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo –SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2291-2811 ou sac@ebram.com

REAGENTES

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 25 °C.

Contem: Arsenazo III 0,2mmol/L, Tampao imidazol 100mmol/L, surfactante e azida sodica 0,05% em pH 6,8 ±0,1.

Padrão (Cód. 3008): Conservar entre 15 – 25°C. Solução aquosa com concentração de cálcio rastreável ao método de referencia proposto pelo NIST. Verifique a concentração do padrão no rotulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis ate a data de vencimento impressa no rotulo 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 ESPECIAIS

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.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICAL - CÁLCIO	Página 2 de 4 POP BIOxxx/xx
-------------------------------	--	--------------------------------

O reagente contém azida 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.

AMOSTRA

É recomendável a utilização de soro fresco livre de hemólise e plasma apenas obtido com heparina. É aconselhável que o soro seja separado do coágulo o mais rápido possível, pois os glóbulos vermelhos podem absorver o cálcio. O cálcio no soro é estável por 7 dias se mantido entre 2-6°C. A amostra poderá ser conservada vedada a -20°C por 5 meses.

Urina: Colhe-se urina 24 horas, em frasco contendo HCL a 50%, 20mL 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.

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

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

PROCEDIMENTO

• Procedimento automático:

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

Aplicação no sistema semiautomático: 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:

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

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

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

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICAL - CÁLCIO	Página 3 de 4 POPBIOxxx/xx
-------------------------------	--	-------------------------------

Nota: A cor final e 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 absorbância contra água. Subtraia este valor da absorbância do paciente para obter a leitura corrigida.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influencia no desempenho do teste.

Salientamos que volumes de amostras menores do que 10mL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

CÁLCULOS

(Abs. = Absorbância)

(Conc. = Concentração)

Abs.amostra

Cálcio Amostra = ----- x Conc. do padrão (mg/dL)
(mg/dL) Abs. padrão

Calculo 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

RESULTADOS

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 laboratorio estabeleça seu próprio intervalo de referencia.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste e 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.

Sensibilidade: 0,0 mg/dL

- **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. Hemólise grave ou lipemia acentuada podem causar resultados elevados.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão QUIMICAL - CÁLCIO	Página 4 de 4 POP BIOxxx/xx
-------------------------------	--	--------------------------------

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.

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 ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxague da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ mega ohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxague final utilizar água tipo II.

REFERÊNCIAS

1. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia p 149 (1984).
2. Henry J.B. Clinical Diagnosis e 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. Connerty, 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

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			

VER Set/20