

QUIMICAL - Cálcio

Arsenazo III

ANVISA: 10159820242



Finalidade

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de cálcio em amostras de soro, plasma e urina animal. 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:



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 paratireóide 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 mM e solução tampão de imidazol 100 mM. Padrão (cód. 3008): Conservar entre 2 - 8°C. Solução aquosa contendo concentração padrão de cálcio rastreável ao Material de Referência Padrão ERM DA250a e DA251a. 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. Calibradores e soros controle.
6. Cronômetro.

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 2-8°C. A amostra poderá ser conservada vedada à -20°C por 5 meses. 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 coleta. 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. Hemólise grave ou lipemia acentuada podem causar resultados elevados. 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, para kits com padrão. A concentração de cálcio no Quimicalib é rastreável ao material de referência NIST 909c/NIST SR-M956d e no padrão ao ERM DA250a e DA251a.

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	20µL	-	-
Padrão	-	20µL	-
Amostra / S.C.	-	-	20µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

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)

$$\text{Cálcio Amostra (mg/dL)} = \frac{\text{Absorvância da amostra}}{\text{Padrão (mg/dL)}} \times \text{concentração do padrão (mg/dL)}$$

Cálculo para Urina de 24 horas:

$$\text{Urina} = \text{Cálcio amostra (mg/L)} \times \text{fator diluição} \times \text{Volume (L)}$$

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

$$\text{Cálcio Amostra} = (0,81 / 0,80) \times 10 = 10,1 \text{ mg/dl}$$
$$\text{Cálcio Amostra} = 10,1 \text{ mg/dl} = 101 \text{ mg/L}$$

$$\text{Cálcio na Urina} = 101 \times 2 \times 1,25$$
$$\text{Cálcio na Urina} = 253 \text{ mg/24hs}$$

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

Caninos: 9 - 13 mg/dL
Felinos: 6,2 - 10,2 mg/dL
Bovinos: 9,7 - 12,4 mg/dL
Equinos: 11,2 - 13,6 mg/dL

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	46
Intervalo dos resultados	5,1 - 13,0 mg/dL
Coefficiente de correlação	0,9927
Inclinação	0,9835
Intercepta	-0,02 (mg/dL)

Precisão

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

N=40	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	10,34	12,16
D.P. (mg/dL)	0,11	0,13
C.V. (%)	1,1	1,1

Exatidão

As amostras foram processadas em duplicata por 10 dias consecutivos, duas vezes por dia. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=40	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	10,34	12,16
D.P. (mg/dL)	0,19	0,24
C.V. (%)	1,8	2,0

Sensibilidade metodológica

0,02 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

- A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- 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 purificada). Para o enxágue da vidraria a água pode ser purificada, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágue final também utilizar água purificada.

Apresentação

Linha Bioquímica Geral: 10 x 10mL + 1 x 1,0mL











Linha Bulk: 1 x 500mL

Referência bibliográfica

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

Revisão: Fevereiro de 2026.

Símbolos universais utilizados em embalagens de diagnóstico in vitro

 Consultar instruções de uso	 Reagente	 Fabricado por
 O conteúdo é suficiente para $<n>$ testes	 Data de validade (último dia do mês)	 Número do lote
 Limite de temperatura (conservar a)	 Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Número do catálogo
 Uso veterinário		

Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho - São Paulo - SP

Tel.: +55 11 2291 2811 - CEP 03059-001 - Indústria Brasileira

CNPJ.: 50.657.402/0001-31

Responsável Técnica

Dra. Nadjara Novaes Longen - CRF-SP - 37.451

SAC Ebram

Para mais informações, entrar em contato com o SAC 0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110
sac@ebram.com | ebram.com.br

