



## QUIMICAL - Cálcio

### Arsenazo III

REG. MS: 10159820242

#### 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

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**

0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110

sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão: Agosto/2023

**FINALIDADE.** Reação colorimétrica para determinação quantitativa de cálcio em amostras de soro e urina. 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 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 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.

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

**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 SRM956d 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.

- 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

- 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 650 nm (600 - 660nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias 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 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 1,0 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. = Absorbância)  
(Conc. = Concentração)

### Cálcio Amostra (mg/dL) =

$$\frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Padrão (mg/dL)}} \times \text{concentração do padrão (mg/dL)}$$

### 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.

Caninos: 9 - 13 mg/dL  
Felino: 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 foi 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.

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 Bulk: 1 x 500mL

### 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. Connerty, H.V. and Biggs, A.R. Am.J. Clin. Path. 45:290 (1966)
6. Gitelman, H.J., Anal. Biochem. 18:621 (1967)
7. Baginad, 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, AACCC Press, p. 81 (1989).
13. Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed., Atheneu, (1998).
14. Arquivos da EBRAM

### 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 IN VITRO	 NÚMERO DO CATALOGO
 USO VETERINÁRIO		