

 **BioTécnica**  
BIOTECNOLOGIA AVANÇADA



**CÁLCIO ASX**

CALCIUM ASX / CALCIO ASX  
Ref. 12.002.00

Responsável Técnico:  
Dr. Gilson Sério Pizzo  
CRF MG – 5310  
MS 80027310212

**FINALIDADE**  
Kit destinado à determinação do Cálcio no soro, plasma e urina. Uso em diagnóstico *in vitro*.

- CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEIO**
- Conservar de 15 a 30 °C.
  - Manter ao abrigo da luz.
  - Estável até a data de validade do kit que está impressa no rótulo da embalagem.
  - Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.


**PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO**  
O cálcio forma com o Arsenazo III um complexo de cor azul que pode ser medido em 650-660 nm. A intensidade da cor formada é proporcional à quantidade de cálcio presente na amostra.

**AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO**  
Tipo de Amostra: Soro, plasma (heparina) e urina.  
Coleta, manuseio e preparo: Realizar a coleta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas com material potencialmente infectante.  
Preservação: O cálcio no soro e no plasma (heparina) é estável por 14 dias se conservado em temperatura de 4 a 8 °C e 6 meses se conservado em temperatura de -20°C.

Urina: Utilizar amostra colhida no período de 24 horas, em frasco contendo de 20 a 30mL de solução de HCl 6 mol/L para prevenir a precipitação de sais de cálcio. Homogeneizar bem, medir o volume e proceder ao ensaio.

**DESCRIÇÃO DO PRODUTO**

**R 1** Tampão MES ≥ 50 mmol/L; Arsenazo III ≥ 0,1 mmol/L

**STD** Conservante; cloreto de cálcio em concentração equivalente a 10,0 mg/dL. Rastreável ao material de referência NIST 3109a. 

- ESTABILIDADE EM USO**
- A estabilidade do produto (R1 e STD) em uso é de 24 meses, desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (15 a 30 °C).

**TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO**

**A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES**  
R1 e STD: Reagentes prontos para uso

**B) INTERVALO OPERACIONAL**  
O intervalo operacional do produto é de 0,94 mg/dL a 20,00 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

**CONTROLE DE QUALIDADE**

O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor em outra faixa de significância clínica. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do soro calibrador e dos soros controles abaixo:

Soro Calibrador - Autocal H 13.002.00

Soro Controle Normal - Quantinorm 13.003.00

Soro Controle Patológico - Quantialt 13.004.00

**PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO**

**A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO**

1. Pipetar em tubos de ensaio:

	Branco	Padrão	Amostra
STD	---	10 µL	---
Amostra	---	---	10 µL
R1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogeneizar bem e incubar os tubos durante 2 minutos de 15 a 30 °C.  
3. Medir a absorbância do Padrão e da Amostra frente ao Branco do Reagente em 650-660 nm. A cor final da reação é estável por 20 minutos.

**B) CÁLCULOS**  
**Soro:**  
Cálcio (mg/dL) =  $\frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times \text{Concentração Padrão (mg/dL)}$

**Exemplo:**  
Concentração do Padrão = 10 mg/dL  
Absorbância da Amostra = 0,320  
Absorbância do Padrão = 0,350  
Cálcio (mg/dL) =  $\frac{0,320}{0,350} \times 10 = 9,1$  mg/dL

**Com Fator de Calibração:**  
Fator de Calibração =  $\frac{\text{Concentração Padrão (mg/dL)}}{\text{Absorbância do Padrão}}$   
Cálcio (mg/dL) = Absorbância da amostra x Fator de Calibração

**Exemplo:**  
Fator de Calibração =  $\frac{10}{0,350} = 28,6$   
Cálcio (mg/dL) = 0,320 x 28,6 = 9,1 mg/dL

**Urina de 24 horas:**  
Cálcio urina (mg/dL) =  $\frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times \text{Concentração Padrão (mg/dL)}$   
Cálcio urina (mg/24 horas) =  $\frac{\text{Cálcio urina (mg/dL)} \times \text{volume urinário de 24 horas (em mL)}}{100}$

**C) INTERPRETAÇÃO**  
O cálcio é o cátion mais predominante no organismo. O esqueleto contém 99% do cálcio corporal com uma estrutura desconhecida e composição aproximada daquela da hidroxiapatita. O restante do cálcio está distribuído nos tecidos e no fluido extracelular onde desempenha funções específicas em processos vitais, dentre elas: coagulação sanguínea, condução neuromuscular, excitabilidade dos músculos cardíaco e esquelético, ativação enzimática, e na preservação da permeabilidade e integridade da membrana celular. Os níveis séricos de cálcio são controlados pelo paratormônio (PTH), calcitonina, e vitamina D. Um desequilíbrio em algum destes moduladores causam alterações nos níveis de cálcio sérico e corpóreo. Aumental no soro de PTH ou vitamina D são geralmente associados com hipercalcemia. Aumento nos níveis de cálcio sérico pode ser observado no mieloma múltiplo e outras doenças neoplásicas. Hipocalcemia pode ser observada por exemplo no hipoparatiroidismo, nefrose e pancreatite.

**INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES**  
**Hemólise, Ictericidade e Lipemia:** Hemoglobina > 200 mg/dL / Bilirrubina > 15 mg/dL / Triglicérides > 900 mg/dL interferem na dosagem.  
**Medicamentos:** consultar referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

**CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO**  
**Sensibilidade:** Limite de detecção: 0,45 mg/dL / Limite de quantificação: 0,94 mg/dL.

**Especificidade Analítica:** O produto determina especificamente o cálcio na presença de outras substâncias interferentes na amostra, até as concentrações informadas acima.

**Exatidão:** O método foi comparado com método similar pela determinação de 40 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão y = 0,988x + 0,081 e coeficiente de correlação r=0,9979. Utilizando esta equação o erro sistemático total estimado de 0,42% para um nível de 5,0 mg/dL e -0,69% para um nível de 16,0 mg/dL.

**Precisão:** Foi determinada utilizando amostras em 03 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtido:

Amostras (mg/dL)	Repetições	Precisão intra-corrida		Precisão total	
		SD (mg/dL)	%CV	SD (mg/dL)	%CV
8,207	80	0,036	0,4	0,037	0,5
12,220	80	0,054	0,4	0,054	0,4
17,445	80	0,068	0,4	0,074	0,4

**%CV:** Coeficiente de variação expresso em porcentagem; SD: Desvio Padrão

**RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES**

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto.

- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de particulares para a água antes do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que os atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

**INTERVALO DE REFERÊNCIA**

	mg/dL	mmol/L
Soro e Plasma	8,6 - 10,3	2,15 - 2,57
	mg/24 horas	mmol/24 horas
Urina	Até 300	Até 7,49

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.  
Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): mmol/L  
Cálcio (mg/dL) x 0,25 = Cálcio (mmol/L)

- MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO**
- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 650-660 nm.
  - Pipetas de vidro e/ou automáticas.
  - Relógio ou Cronômetro.
  - Tubos de ensaio.

**ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO**

- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em [www.biotecnica.ind.br](http://www.biotecnica.ind.br) ou pelo telefone +55 35 3214 4646.
- Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

**GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR**

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Biotécnica são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições especificadas. Os dados relativos ao Controle de Qualidade deste produto (lote impresso nas etiquetas dos frascos de reagentes) ou qualquer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Científica da Biotécnica Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo email [sac@biotecnicalltda.com.br](mailto:sac@biotecnicalltda.com.br)

**AUTOMAÇÃO**  
Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores. Os protocolos estão disponíveis em [www.biotecnica.ind.br](http://www.biotecnica.ind.br)

**ENGLISH**  
**INTENDED USE**  
Kit intended to determination of calcium in serum, plasma and urine. Diagnostic use only.

**STORAGE AND HANDLING**

- Store at 15 to 30 ° C.
- Protect from light.
- Stable until the kit expiration date that is printed on the label.
- Do not use reagents whose date has expired.

**WORKING PRINCIPLE**  
Calcium forms with Arsenazo III a complex of blue color that can be measured at 650-660 nm. The intensity of the formed color is proportional to the amount of calcium present in the sample.


**SAMPLE – PREPARATION AND STABILITY**  
**Sample Type:** Serum, plasma (Heparin) and urine.

**Collection, handling and preparation:** Make the collection of the sample in accordance with Good Laboratory Practice. The samples to be analyzed should be treated as potentially infectious material.

**Preservation:** The calcium in serum and plasma (heparina) is stable for 14 days if stored at a temperature of 4 to 8 °C and 6 months if stored at a temperature of -20 °C. Urine: Use sample collected within 24 hours in a bottle containing 20 to 30 mL of 6 mol / L HCl solution to prevent the precipitation of calcium salts. Mix well, measure the volume and proceed with the test.

**PRODUCT DESCRIPTION**

**R 1** MES buffer ≥ 50 mmol/L; Arsenazo III ≥ 0,1 mmol/L

**STD** Preservative; calcium chloride concentration equivalent to 10mg/dL 

The determination of calcium is traceable to reference material NIST 3109 a.

**STABILITY IN USE**

- The stability of the product (R1 and STD) in use is 24 months as long as followed by the recommended storage conditions (15 to 30 ° C).

**TECHNICAL PROCEDURE**

**A) REAGENT PREPARATION**  
**Reagent 1 (R1)**  
The reagent is ready to use.  
**B) OPERATING RANGE**  
The product operating range is from 0,94 mg/dL to 20,00 mg/dL. For higher values, dilute the sample with NaCl 150 mM (0.9%), repeat the assay and multiply the result by the dilution factor.

**QUALITY CONTROL**  
Use of controls should be a routine practice in the lab. It is suggested to use a control within the reference range or decision level and another control with value in another range of clinical significance. For the internal quality control of the lab it's indicated the use of the calibrator serum and control sera below:

Calibrator Serum - Autocal H	<b>REF</b>	13.002.00
Normal Control Serum – Quantinorm		13.003.00
Pathological Control Serum – Quantialt		13.004.00

**TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION**

**A) TEST PROCEDURE**

1. Pipette in the assay tubes:

	Blank	Standard	Sample
STD	-	10 µL	-
Sample	-	-	10 µL
R1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogenize and incubate 2 minutes at 15 to 30 °C.  
3. Measure the absorbance of Standard (Ast) and Sample (Asa) against the blank at 650-660 nm. The final reaction is stable for 20 min.

**B) CALCULATIONS**  
**Calculation of serum**  
Calcium (mg/dL) =  $\frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times \text{STD Concentration}$

**Example:**  
Standard Concentration = 10 mg / dL  
Sample Absorbance = 0.320  
Standard Absorbance = 0.350  
Calcium (mg / dL) =  $\frac{0,320}{0,350} \times 10 = 9,1$  mg/dL

**With Calibration Factor (CF):**  
CF =  $\frac{\text{STD Concentration (mg/dL)}}{\text{STD Absorbance}}$   
Calcium (mg/dL) = Sample Absorbance x CF  
**Example:**  
Calibration Factor =  $\frac{10}{0,350} = 28,6$   
Calcium (mg/dL) = 0,320 x 28,6 = 9,1 mg/dL

**24-hour urine:**  
Calcium urine (mg/dL) =  $\frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times \text{Standard Concentration (mg/dL)}$   
Calcium urine (mg / 24 hours) =  $\frac{\text{Calcium urine (mg/dL)} \times \text{24 hour urine volume (mL)}}{100}$

**C) INTERPRETATION**  
Calcium is the most predominant cation in the body. The skeleton contains 99% of body calcium with an unknown structure and composition roughly that of hydroxyapatite. The remainder of the calcium is distributed in tissues and extracellular fluid where it performs specific functions in vital processes, among them: blood coagulation, neuromuscular conduction, cardiac and skeletal muscle excitability, enzymatic activation, and preservation of cell membrane permeability and integrity. Serum calcium levels are controlled by parathyroid hormone (PTH), calcitonin, and vitamin D. An imbalance in some of these modulators causes changes in serum and body calcium levels. Serum increases in PTH or vitamin D are generally associated with hypercalcemia. Increased levels of serum calcium can be observed in multiple myeloma and other neoplastic diseases. Hypocalcemia can be observed for example in hypoparathyroidism, nephrosis and pancreatitis.

**INTERFERING AND LIMITATIONS**

