



Cálcio Arsenazo

Finalidade

Método colorimétrico direto para a determinação de cálcio em soro, plasma e urina.

Significado clínico

O cálcio é um elemento muito importante na maioria das reações da coagulação sanguínea e na regulação da excitabilidade das fibras musculares.

Sua concentração em soro e urina está regulada pela ação de fatores tais como níveis de parathormônio, vitamina D e fósforo; observando-se variações fisiológicas devidas à idade, sexo, gravidez, atividade física, mudanças de estação (pela ação da luz solar).

A hipercalcemia está relacionada com diferentes patologias, tais como: hiperparatiroidismo, neoplasias ósseas, intoxicação com vitamina D.

A hipocalcemia associa-se com alterações tais como hipoparatiroidismo, deficiência de vitamina D, má-absorção.

Fundamentos do método

O cálcio reage com arsenazo III produzindo um complexo de cor azul que se mede em fotolorímetro a 650 nm.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução de arsenazo III 100 mg/L e 8-hidroxi-quinolina sulfonato 1,4 g/L em tampão Tris 100 mM, pH 8,5.

S. Padrão: solução de cálcio 10 mg/dL.

Reagentes não fornecidos

- Água destilada ou desionizada.

- **Laborcal** da Laborlab para a técnica automática. Pode também empregar-se em calibração de técnicas manuais.

Instruções de uso

Reagentes fornecidos: prontos para uso.

Padrão: toda vez que for utilizado, transferir uma quantidade em um tubo limpo, pipetar o volume necessário e descartar o restante.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-8°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Evitar a exposição do **Reagente A** à luz direta.

Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

A turbidez ou perda da cor do **Reagente A** são indícios de deterioração do mesmo, enquanto absorvâncias do Branco $\geq 1,200$ D.O. a 650 nm (vide "Limitações do procedimento"), são indícios de contaminação com cálcio. Descartar em ambos casos.

Amostras

Soro, plasma heparinizado ou urina

a) Coleta:

- Soro ou plasma: obter da maneira habitual.

- Urina: coletar urina de 24 horas sobre 20 mL de ácido clorídrico a 50%. Levar a 2 litros com água e homogeneizar.

b) Aditivos: no caso de usar plasma deve-se utilizar heparina como anticoagulante. Se a amostra a empregar for urina, deve-se misturar com ácido clorídrico a 50% durante sua obtenção.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferivelmente fresca. Pode ser conservada durante uma semana sob refrigeração (2-8°C) ou mais de 5 meses congelada (-20°C), sem acrescentar conservantes.

Interferências

Os anticoagulantes diferentes da heparina, comprometem o cálcio produzindo resultados errôneos. Não interferem: bilirrubina até 200 mg/L, hemoglobina até 350 mg/dL, magnésio até 10 mg/dL nem triglicérides até 500 mg/dL.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro ou fotolorímetro.

- Micropipetas ou pipetas capazes de medir os volumes indicados.

- Tubos ou cubas espectrofotométricas.

- Cronômetro.

Condições de reação

- Comprimento de onda: 650 nm em espectrofotômetro ou 620-650 nm em fotolorímetro.

- Temperatura de reação: temperatura ambiente (15-25°C).

- Tempo de reação: 2 minutos

- Volume de amostra: 10 uL

- Volume final de reação: 1,01 mL

Os volumes de Amostra e de Reagente A podem ser modificados proporcionalmente (Ex.: 20 uL de Amostra + 2 mL de Reagente A ou 5 uL de Amostra + 0,5 mL de Reagente A).

Procedimento

Em três tubos marcados B (Branco), P (Padrão ou Calibrador) e D (Desconhecido) colocar:

	B	P	D
Amostra	-	-	10 uL
Padrão ou Calibrador	-	10 uL	-
Água destilada	10 uL	-	-
Reagente A	1 mL	1 mL	1 mL

Misturar, incubar 2 minutos a temperatura ambiente (15-25°C) e ler a absorvância em espectrofotômetro a 650 nm ou em fotolorímetro (620-650 nm), zerando o aparelho com o Branco.

Estabilidade da mistura de reação final

A cor de reação final é estável 1 hora, pelo que a absorvância deve ser lida dentro deste tempo.

Cálculos dos resultados

$$1) \text{ Cálcio sérico (mg/dL)} = D \times f \quad f = \frac{10 \text{ mg/dL ou C}}{P}$$

onde:

C = concentração de cálcio no Laborcal no caso de empregar este reagente

$$2) \text{ Cálcio urinário (mg/24 hs)} = \frac{D}{P} \times 200 \text{ mg/24 hs}$$

No caso de amostras de urinas com volumes de diurese maiores a 2 litros ou que não foram levados a 2 litros com água destilada, utilizar o seguinte cálculo:

$$\text{Cálcio urinário (mg/24 hs)} = \frac{D}{P} \times 100 \times V$$

onde:

100 = concentração do Padrão em mg/L

V = volume da diurese em litros/24 hs

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Absorvância da amostra: 0,432

Absorvância do Padrão: 0,454

$$\text{Fator} = \frac{10 \text{ mg/dL}}{0,454} = 22,0$$

$$\text{Cálcio sérico (mg/dL)} = 0,432 \times 22 = 9,50 \text{ mg/dL}$$

Cálcio urinário (volume completado para 2 litros)

Absorvância da amostra: 0,325

Absorvância do Padrão: 0,454

$$\text{Cálcio urinário (mg/24hs)} = 0,325/0,454 \times 200 = 143 \text{ mg/24 hs}$$

Cálcio urinário (com medição de diurese)

Absorvância da amostra: 0,378

Absorvância do Padrão: 0,454

Diurese: 2,3 litros

$$\text{Cálcio urinário (mg/24 hs)} = 0,378/0,454 \times 100 \times 2,3 = 191 \text{ mg/24 hs}$$

Conversão de unidades

$$\text{Ca (mg/dL)} = \text{Ca (mmol/L)} \times 4$$

$$\text{Ca (mmol/L)} = \text{Ca (mg/dL)} \times 0,25$$

$$\text{Ca (mg/dL)} = \text{Ca (mEq/L)} \times 2$$

$$\text{Ca (mEq/L)} = \text{Ca (mg/dL)} \times 0,5$$

Método de controle de qualidade

Se a amostra a ensaiar for soro, processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com concentrações conhecidas de cálcio, em cada determinação. Se a amostra for urina, utilizar um controle baseado em urina.

Valores de referência

Soro: 8,5 - 10,5 mg/dL

Urina: até 300 mg/24 hs (com dieta normal)

Em uma população de 120 indivíduos saudáveis, pertencentes a ambos sexos (entre 20 e 45 anos), com uma dieta livre de cálcio, obteve-se:

Urina: 60 - 200 mg/24 hs

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

No caso de comprimentos de onda inferiores a 650 nm, podem-se obter leituras do Branco superiores a 1200 D.O. que não afetam os resultados.

Contaminações: o material a ser utilizado deve ficar rigorosamente limpo, livre de cálcio e de todo resto de anticoagulante. Aconselhamos lavar com detergentes não iônicos ou ácidos minerais diluídos, enxugando finalmente com água destilada. Aconselha-se separar pipetas e tubos para uso exclusivo da determinação.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente 20 duplicatas das mesmas amostras num mesmo dia, obtiveram-se os seguintes dados:

	Nível	D.P.	C.V.
Soro	9,2 mg/dL	± 0,18 mg/dL	1,93 %
	11,0 mg/dL	± 0,10 mg/dL	0,88 %
Urina	104 mg/24 hs	± 2,68 mg/24 hs	2,57 %
	372 mg/24 hs	± 6,64 mg/24 hs	1,79 %

Processando a mesma amostra em diferentes dias, obteve-se:

	Nível	D.P.	C.V.
Soro	9,1 mg/dL	± 0,16 mg/dL	1,74 %
	12,1 mg/dL	± 0,16 mg/dL	1,29 %
Urina	117 mg/24 hs	± 2,9 mg/24 hs	2,44 %
	266 mg/24 hs	± 7,0 mg/24 hs	2,62 %

b) Linearidade: a reação é linear até 20 mg/dL. Para valores acima, repetir a determinação utilizando amostra diluída 1:2 ou 1:4 com solução fisiológica e multiplicar por 2 ou 4 o resultado obtido.

c) Limite de quantificação: a mínima concentração de cálcio detectável pelo método é 2,5 mg/dL.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração do aparelho deve ser utilizado o **Laborcal** da Laborlab.

Apresentação

- 100 determinações (Cód. 1770055)

Referência

- Morgan, B.R.; Artiss, J.D.; Zak, B. - Clin. Chem. 39/8:1608 (1993).
- Leary, N.O.; Penbroke, A.; Duggan, P.F. - Clin. Chem. 38/6:904 (1992).
- Burtis C., Ashwood, E. - Tietz Textbook of Clinical Chemistry, WB Saunders Co., 3rd ed, 1999.
- Martinek, R.G. - J. Am. Med. Techn. 33:416 (1971).
- Rojkin, M. y Mariani, M. de - Bioquím. Clín. VII/4:405 (1973).
- Lorenzo, L.E.; Drappo, G.A. - 1º Congreso Argentino de Osteología y Metabolismo Mineral - Rosario (1984).
- Drappo, G.; Lorenzo, L.; - Revista ABA 239:230 (1979).
- Connerty, H.V.; Briggs, A.R. - Am. J. Clin. Path. 45:290 (1966).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W. - "Fundamentals of Clinical Chemistry", W.B. Saunders, Philadelphia, 2001.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br

Cálcio Arsenazo

Fin y uso

Método colorimétrico directo para la determinación de calcio en suero, plasma y orina

Significación clínica

El calcio es esencial en la mayoría de las reacciones de la coagulación sanguínea y en la regulación de la excitabilidad de las fibras musculares.

Su concentración en suero y orina está regulada por la acción de factores tales como niveles de parathormona, vitamina D y fósforo, observándose fluctuaciones fisiológicas debidas a edad, sexo, embarazo, actividad física, cambios estacionales (por acción de la luz solar).

La hipercalcemia está relacionada con distintas patologías: hiperparatiroidismo, neoplasias óseas, intoxicaciones con vitamina D.

La hipocalcemia se asocia con desórdenes tales como hipoparatiroidismo, deficiencia de vitamina D, malabsorción.

Fundamentos del metodo

El calcio reacciona con arsenazo III dando un complejo de color azul que se mide fotocolorimétricamente a 650 nm.

Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución de arsenazo III 100 mg/l y 8-hidroxi-quinolina sulfonato 1,4 g/l en buffer Tris 100 mM, pH 8,5.

S. Standard: solución de calcio 10 mg/dl.

Reactivos no provistos

- Agua destilada o desionizada.

- **Laborcal** de Laborlab cuando se emplea la técnica automática. Puede también emplearse en calibración de técnicas manuales.

Instrucciones para su uso

Reactivos Provisos: listos para usar.

Standard: cada vez que se use, transferir una cantidad en exceso a un tubo limpio y pipetear de allí el volumen necesario, descartando el sobrenadante.

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provisos: son estables en refrigerador (2-8°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Evitar la exposición prolongada del Reactivo A a la luz directa.

Indicios de inestabilidad o deterioro de los reactivos

La turbidez o decoloración del Reactivo A indica deterioro del mismo, mientras que absorbancias del blanco mayor a 1,200 D.O. a 650 nm (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO), son indicio de contaminación con calcio. En ambos casos, desechar.

Muestra

Suero, plasma heparinizado u orina

a) Recolección:

- Suero o plasma: obtener de la manera usual.

- Orina: recolectar orina de 24 horas sobre 20 ml de ácido clorhídrico al 50%. Llevar a 2 litros con agua y homogeneizar.

b) Aditivos: en caso de utilizar plasma, se debe usar heparina como anticoagulante. Si la muestra a emplear es orina, se debe acidificar con ácido clorhídrico al 50% durante su recolección.

c) Sustancias interferentes conocidas: los anticoagulantes distintos de la heparina, complejan al calcio produciendo resultados erróneos. No interfieren: bilirrubina hasta 200 mg/l, hemoglobina hasta 350 mg/dl, magnesio hasta 10 mg/dl, ni triglicéridos hasta 500 mg/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse una semana en refrigerador (2-8°C) o más de 5 meses en el congelador, sin agregado de conservadores.

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.

- Micropipetas y pipetas capaces de medir los volúmenes indicados.

- Tubos o cubetas espectrofotométricas.

- Cronómetro.

Condiciones de reacción

- Longitud de onda: 650 nm en espectrofotómetro o 620-650 nm en fotocolorímetro.

- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (15-25°C).

- Tiempo de reacción: 2 minutos

- Volumen de muestra: 10 ul

- Volumen final de reacción: 1,01 ml

Los volúmenes de muestra y Reactivo A se pueden variar proporcionalmente (ej.: 20 ul de muestra + 2 ml de Reactivo A o 5 ul de muestra + 0,5 ml de Reactivo A).

Procedimiento

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard o Calibrador) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Muestra	-	-	10 ul
Standard o Calibrador	-	10 ul	-
Agua destilada	10 ul	-	-
Reactivo A	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar e incubar 2 minutos a temperatura ambiente (15-25°C). Leer la absorbancia en espectrofotómetro a 650 nm o en fotocolorímetro (620-650 nm), llevando el aparato a cero con el Blanco.

Estabilidad de la mezcla de reaccion final

El color de reacción final es estable 1 hora, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

Calculo de los resultados

$$1) \text{ Calcio sérico (mg/dl)} = D \times f \quad f = \frac{10 \text{ mg/dl o C}}{S}$$

donde:

C = concentración de calcio en el Calibrador A plus en caso de utilizar este reactivo

$$2) \text{ Calcio urinario (mg/24 hs)} = \frac{D}{S} \times 200 \text{ mg/24 hs}$$

En el caso de orinas con volúmenes de diuresis superiores a los 2 litros o que no han sido llevadas a 2 litros con agua destilada, utilizar el siguiente cálculo:

$$\text{Calcio urinario (mg/24 hs)} = \frac{D}{S} \times 100 \times V$$

donde:

100 = concentración del Standard en mg/l

V = volumen de la diuresis en litros/24 hs

Ejemplo:

(Los datos presentados a continuación son ilustrativos)

Absorbancia de la muestra: 0,432

Absorbancia del Standard: 0,454

$$\text{Factor} = \frac{10 \text{ mg/dL}}{0,454} = 22,0$$

Calcio sérico (mg/dL) = 0,432 x 22 = 9,50 mg/dL

Calcio urinario (volumen completado para 2 litros)

Absorbancia de la muestra: 0,325

Absorbancia del Standard: 0,454

Calcio urinario (mg/24hs) = 0,325/0,454 x 200 = 143 mg/24 hs

Calcio urinario (con medida de diuresis)

Absorbancia de la muestra: 0,378

Absorbancia del Standard: 0,454

Diuresis: 2,3 litros

Calcio urinario (mg/24 hs) = 0,378/0,454 x 100 x 2,3 = 191 mg/24 hs

Coinversión de unidades

Ca (mg/dl) = Ca (mmol/l) x 4

Ca (mmol/l) = Ca (mg/dl) x 0,25

Ca (mg/dl) = Ca (mEq/l) x 2
Ca (mEq/l) = Ca (mg/dl) x 0,5

Método de control de calidad

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Laborcontrol 1** y **Laborcontrol 2** de Laborlab) con concentraciones conocidas de calcio, con cada determinación. En el caso de muestras de orina, utilizar un control con base de orina.

Valores de referencia

Suero: 8,5 - 10,5 mg/dl

Orina: hasta 300 mg/24 hs (para una dieta normal)

En una población de 120 individuos sanos, provenientes de la ciudad de Rosario (Argentina), de ambos sexos (entre 20 y 45 años), con una ingesta restringida en calcio, se encontró:

Orina: 60 - 200 mg/24 hs

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

A longitudes de onda inferiores a 650 nm, pueden encontrarse lecturas de Blanco superiores a 1,200 D.O. que no afectan los resultados.

Contaminaciones: el material a utilizar debe estar rigurosamente limpio, libre de calcio y de toda traza de anticoagulante. Para ello aconsejamos lavar con detergentes no iónicos o ácidos minerales diluidos, efectuando varios enjuagues con agua destilada.

Se aconseja separar pipetas y tubos para uso exclusivo de esta determinación.

Performance

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente 20 replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

	Nivel	D.S.	C.V.
Suero	9,2 mg/dl	± 0,18 mg/dl	1,93 %
	11,0 mg/dl	± 0,10 mg/dl	0,88 %
Orina	104 mg/24 hs	± 2,68 mg/24 hs	2,57 %
	372 mg/24 hs	± 6,64 mg/24 hs	1,79 %

Procesando la misma muestra en diferentes días, se obtuvo:

	Nivel	D.S.	C.V.
Suero	9,1 mg/dl	± 0,16 mg/dl	1,74 %
	12,1 mg/dl	± 0,16 mg/dl	1,29 %
Orina	117 mg/24 hs	± 2,9 mg/24 hs	2,44 %
	266 mg/24 hs	± 7,0 mg/24 hs	2,62 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 20 mg/dl. Para valores superiores, repetir la determinación empleando muestra diluida al 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica y multiplicar el resultado obtenido por 2 ó 4 respectivamente.

c) Límite de cuantificación: la mínima concentración de calcio detectable por este método es de 2,5 mg/dl.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Laborcal** de Laborlab.

Presentación

- 100 determinaciones (Cód. 1770055)

Bibliografía

- Morgan, B.R.; Artiss, J.D.; Zak, B. - Clin. Chem. 39/8:1608 (1993).
- Leary, N.O.; Penbroke, A.; Duggan, P.F. - Clin. Chem. 38/6:904 (1992).
- Burtis C., Ashwood, E. - Tietz Textbook of Clinical Chemistry, WB Saunders Co., 3ª ed, 1999.
- Martinek, R.G. - J. Am. Med. Techn. 33:416 (1971).
- Rojkin, M. y Mariani, M. de - Bioquím. Clín. VII/4:405 (1973).
- Lorenzo, L.E.; Drappo, G.A. - 1º Congreso Argentino de Osteología y Metabolismo Mineral - Rosario (1984).
- Drappo, G.; Lorenzo, L.; - Revista ABA 239:230 (1979).
- Connerty, H.V.; Briggs, A.R. - Am. J. Clin. Path. 45:290 (1966).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz, N.W. - "Fundamentals of Clinical Chemistry", W.B. Saunders, Philadelphia, 2001.

SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo