CA ARSENAZO Liquiform
Instruções de Uso

Ref.: 95
MS 10009010076

Finalidade . Sistema para a determinação do cálcio em amostras de sangue e urina com reação de ponto final.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . O cálcio reage com o arsenazo III em meio discretamente ácido formando o complexo cálcio-arsenazo III de cor azul, cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de cálcio na amostra. A absorbância do produto da reação deve ser medida nos comprimentos de onda 600 ou 660 nm.

Características do sistema . As medições fotométricas do cálcio em soro e urina através de métodos diretos estão baseadas na formação de complexos com moléculas orgânicas. Dentre os compostos que reagem com o cálcio, o arsenazo III é freqüentemente utilizado na rotina dos laboratórios clínicos. Nos levantamentos do Colégio de Patologistas Americanos realizados no ano de 2002, 39% dos participantes utilizaram reagentes contendo o arsenazo III.

O reagente é disponibilizado sob a forma líquida, monoreagente, facilitando assim sua aplicação e utilização. O sistema da Labtest não sofre interferência de bilirrubina até concentrações de 20 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL e triglicérides até 1100 mg/dL quando a absorbância do produto da reação é medida em 660 nm.

O método não sofre interferências das proteínas plasmáticas e o efeito do magnésio é eliminado pela adição de 8-hidroxiquinoleína, tornando o método um dos mais específicos para a determinação do cálcio.

O sistema é facilmente aplicável em analisadores automáticos e semiautomáticos capazes de realizar uma medição de ponto final em 600 ou 660 nm.

Metodologia . Arsenazo III

Reagentes

1. R 1 - Reagente 1 - Armazenar entre 2-8ºC.
Contém tampão 100 mmol/L, pH 6,8; arsenazo III ≤0,2 mmol/L; 8-hidroxiquinoleína ≥5 mmol/L; azida sódica <0,1% e surfactantes.

2. CAL - Padrão - Cálcio 10 mg/dL - Armazenar entre 2-30ºC.
Após o manuseio armazenar bem vedado para evitar evaporação.
Contém azida sódica <0,1%.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes.

O Reagente 1 e o Padrão contêm azida sódica, que é tóxica. Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão e, no caso de contato com os olhos, deve-se lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

Material necessário e não fornecido

1. Fotômetro capaz de medir com exatidão a absorbância em 600 ou 660 nm (ver INTERFERÊNCIAS).
2. Pipetas para medir amostras e reagente.

Influências pre-analíticas . O exercício físico aumenta o valor do cálcio em 3 - 5%.

A concentração do cálcio diminui cerca de 10% na gravidez.

Os valores do cálcio estão ligeiramente reduzidos no alcoolismo crônico e ligeiramente aumentados após hemodiálise.

Amostra

Usar soro ou plasma (heparina) e urina.

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Devido ao aumento da permeabilidade das hemácias ao cálcio, deve-se separar o soro ou plasma até uma hora após a coleta. O analito é estável até 2 semanas entre 2-8ºC e 4 semanas a 10ºC negativos. Colher a amostra de urina em um frasco contendo 20 mL de HCl 6 mol/L (50% V/V). Durante a coleta, a amostra deve ser bem homogeneizada.

Labtest

Quando a amostra de 24 horas não for acidificada durante a coleta, adicionar 20 mL de HCl 6 mol/L, homogeneizar bem, esperar 60 minutos e tomar a alíquota para o ensaio. A amostra previamente acidificada deve ser bem misturada antes de usar.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não trasmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las devem-se seguir as normas estabelecidas para biosegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Plasmas com citrato, oxalato, fluoreto ou EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos porque formam complexos estáveis com o cálcio.

Valores de bilirrubina até 20 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL e triglicérides até 1100 mg/dL não produzem interferências significativas quando a absorbância do produto da reação é medida em 660 nm.

Valores de hemoglobina maiores que 60 mg/dL produzem interferências significativas quando a absorbância do produto da reação é medida em 600 nm.

Para avaliar a concentração aproximada da hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e medir a absorbância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{405} \times 601$$
$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{415} \times 467$$

Procedimento

Ver OBSERVAÇÕES 1, 2 e 3.

Tomar 2 cubetas do fotômetro, rotular ''Teste'' e ''Padrão'' e proceder como a seguir:

	Teste	Padrão
Reagente 1	1,0 mL	1,0 mL

Selecionar o comprimento de onda de 600 (600 - 610) nm ou 660 (650 - 660) nm (ver INTERFERÊNCIAS).

Tomar a cubeta ''Teste'' e acertar o zero do fotômetro. Em seguida, sem movimentar os controles do fotômetro, adicionar 0,01 mL da amostra nesta cubeta. Misturar bem e determinar a absorbância (A_{Teste}).

Tomar a cubeta ''Padrão'' e acertar o zero do fotômetro. Em seguida, sem movimentar os controles do fotômetro, adicionar 0,01 mL de padrão nesta cubeta. Misturar bem e determinar a absorbância ($A_{padrão}$).

Este procedimento elimina a interferência causada por traços de cálcio presentes na vidraria.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado. Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculos se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos . Ver linearidade.

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 10$$

Exemplo

Absorbância do teste: 0,344
Absorbância do padrão: 0,445

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = \frac{0{,}344}{0{,}445} \times 10 = 7{,}7$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, pode-se utilizar o método do fator.

$$\text{Fator de calibração} = \frac{10}{\text{Absorbância do padrão}}$$

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = \text{Absorbância do teste} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo

$$\text{Fator de calibração} = \frac{10}{0{,}445} = 22{,}47$$

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = 0{,}344 \times 22{,}47 = 7{,}7$$

$$\text{Cálcio urinário (mg/24 horas)} = \frac{\text{Cálcio urinário (mg/dL)} \times \text{vol. urinário (mL)}}{100}$$

Cálcio por volume de filtrado glomerular . O cálcio urinário (CaU) dosado em uma amostra de urina pode ser relacionado ao volume do filtrado glomerular (FG). Esta relação é uma alternativa para obter valores da calciúria quando a amostra de 24 horas não estiver disponível. Obter uma amostra de sangue e urina após jejum de 8 horas.

Realizar as dosagens de cálcio e creatinina na urina e creatinina no soro e aplicar na seguinte fórmula:

$$\text{Ca (mg/100 mL de FG)} = \frac{\text{CaU (mg/dL) x creatinina sérica (mg/dL)}}{\text{Creatinina urinária (mg/dL)}}$$

Calibração . O padrão é rastreável ao Standard Reference Material (SRM) 915 do National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibrações manuais
Obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes;
Obter o fator quando o controle interno da qualidade indicar.

Sistemas automáticos
Branco de reagentes: água ou solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%);
Padrões: usar calibradores protéicos. As concentrações de cálcio nos calibradores da linha Calibra - Labtest são rastreáveis ao SRM 915b do NIST;

Intervalo de calibrações
Deve-se recalibrar o sistema nas seguintes situações:
Calibração de 2 pontos ao mudar de lote;
Calibração de 2 pontos quando o controle interno da qualidade indicar.

Linearidade

O resultado da medição é linear até 17 mg/dL. Quando for obtido um valor igual ou maior que 17 mg/dL, diluir a amostra 1:2 ou 1:4 com NaCl 150 mmol/l (0,85%), realizar nova medição e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e desvios da calibração. Recomenda-se utilizar um sistema de regras de controle para verificar a estabilidade do sistema de medição[7].

Sugere-se utilizar as preparações estabilizadas da linha Qualitrol - Labtest para controle interno da qualidade em ensaios de química clínica.

Cálcio ionizado . O cálcio ionizado (Cal) pode ser determinado utilizando as dosagens de cálcio sérico, proteína total e albumina.

$$\text{Cal (mg/dL)} = \frac{6 \times \text{Ca} - \frac{[(0{,}19 \times \text{P}) + \text{A}]}{3}}{(0{,}19 \times \text{P}) + \text{A} + 6}$$

Ca = Cálcio sérico (mg/dL)
P = Proteína total (g/dL)
A = Albumina (g/dL)

Intervalo de referência . Os intervalos devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos de referência na população atendida.

Soro
Cálcio

Crianças[8,9]	
Idade	mg/dL
Cordão Umbilical	8,2 a 11,2
Prematuros	6,2 a 11,0
0 a 10 dias	7,6 a 10,4
Lactentes	9,0 a 11,0
2 a 12 anos	8,8 a 10,8

Cálcio

Adultos	mg/dL
	8,8 a 11,0

Cálcio Iônico (mg/dL)

1 a 18 anos[8,9]	4,80 a 5,52
Adultos	4,60 a 5,40

Urina . 5 a 40 mg / 24 horas em dieta isenta de cálcio. Até 200 mg / 24 horas em dieta restrita de cálcio (500 mg / 24 horas). Até 300 mg / 24 horas em dieta sem restrição de cálcio.

Amostra de urina . <0,16 mg/ 100 mL de FG.

Conversão . Unidades Convencionais (mg/dL) X 0,25 = Unidades SI (mmol/L).

Características do desempenho[10]

Exatidão . Em três amostras com concentrações de cálcio iguais a 7,0, 11,0 e 13,0 mg/dL foram adicionadas quantidades diferentes do analito obtendo-se recuperações entre 90 e 92%. O erro sistemático proporcional médio obtido em um valor de 11 mg/dL foi igual a 0,96 mg/dL ou 8,7%.

Especificidade . O método proposto foi comparado com um método similar utilizando 60 amostras com valores situados entre 2,7 e 17,6 mg/dL. A comparação resultou na equação da regressão: y = 1,001x - 0,071 e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,999. O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado no nível de decisão 11 mg/dL foi igual a 0,088 mg/dL ou 0,8%.

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Repetitividade - imprecisão intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	8,4	0,11	1,29
Amostra 2	20	11,8	0,15	1,31
Amostra 3	20	14,3	0,16	1,12

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	8,4	0,16	1,90
Amostra 2	20	11,8	0,17	1,49
Amostra 3	20	14,3	0,21	1,44

Sensibilidade metodológica . Uma amostra protéica não contendo cálcio foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio tendo sido encontrado um valor igual a 0,083 mg/dL, equivalente à média de 20 ensaios mais dois desvios padrão. Utilizando-se a absorbância do padrão como parâmetro verificou-se que o limite de detecção fotométrica é de 0,024 mg/dL, correspondendo a uma absorbância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Duas amostras com valores iguais a 17,4 e 17,7 mg/dL foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando fatores de diluição que variaram de 2 a 4 encontraram-se recuperações entre 103 e 105%.

Significado clínico . O cálcio sérico é mantido dentro dos limites fisiológicos pela ação combinada do paratohormônio e vitamina D através de seus efeitos sobre os ossos, intestinos e rins.

Na maioria das vezes a hipercalcemia indica a presença de hiperparatireoidismo ou de doenças malignas. A hipercalcemia está associada ao uso de drogas como os tiazídicos, vitaminas A e D, antiácidos alcalinos e carbonato de lítio. A imobilização (fraturas), doença de Paget e doenças granulomatosas (sarcoidose) são causas de hipercalcemia.

As causas mais comuns de hipocalcemia são: hipoparatireoidismo idiopático ou cirúrgico, pseudo hipoparatireoidismo, insuficiência renal, desordens do metabolismo da vitamina D, deficiência de magnésio, drogas, tetania neonatal, pancreatite aguda, transfusões sangüíneas múltiplas.

Observações

1. A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

2. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água deionizada ou destilada utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágüe final da vidraria, deve ter resistividade ≥1 megaohm.cm ou condutividade ≤1 microsiemens/cm e concentração de silicatos <0,1 mg/L.

Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

3. O uso de detergente iônico para a limpeza do material é uma fonte de contaminação com cálcio.

4. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar <www.fxol.org/>.

Referências

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER eds, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1994.

2. Leary NO, Pembroke A, Duggan PF. Clin Chem 1992;38:904-8.

3. Morgan BR, Artiss JD, Zak B. Clin Chem 1993;39:1608-12.

4. Jansen JW, Helbing AR. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:197-201

5. Pottgen P, Davis ER. Clin Chem 1976;22:1752.

6. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.

7. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.

8. Burtis CA, Ashwood ER. Textbook of Clinical Chemistry, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders, 1986:2175-2211.

9. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Ranges, 5a. edição, Washington: AACC Press, 2005: 45-46.

10. Labtest: Dados de arquivo.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
Ca Arsernazo Liquiform	95-2/50	R 1	2 x 50 mL
		CAL	1 x 5 mL
Ca Arsernazo Liquiform Labmax 560/400	95-4/43	R 1	4 x 43 mL
		CAL	1 x 5 mL

Labtest

Estão disponíveis aplicações **para sistemas automáticos e semiautomaticos.**

O número de testes em aplicações para sistemas automáticos **depende dos parâmetros de programação.**

Algumas apresentações podem ser disponibilizadas mediante consulta.

Informações ao consumidor

[Termos e condições de garantia]

A Labtest Diagnóstica garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

CE

Labtest Diagnóstica S.A.
CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33400-000
Lagoa Santa . Minas Gerais Brasil - **www.labtest.com.br**
Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Revisão: Abril, 2013
Ref.: 260117

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

 **Conteúdo suficiente para < n > testes** Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests	 **Risco biológico** Riesgo biológico Biological risk
 **Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa)** Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)	 **Marca CE** Marcado CE CE Mark
 **Material Calibrador** Material Calibrador Calibrator Material	 **Tóxico** Tóxico Poison
 **Material Calibrador** Material Calibrador Calibrator Material	 **Reagente** Reactivo Reagent
 **Limite de temperatura (conservar a)** Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)	 **Fabricado por** Elaborado por Manufactured by
 **Representante Autorizado na Comunidade Europeia** Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community	 **Número do lote** Denominación de lote Batch code
 **Consultar instruções de uso** Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use	 **Controle** Control Control
 **Número do catálogo** Número de catálogo Catalog Number	 **Controle negativo** Control negativo Negative control
 **Adições ou alterações significativas** Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes	 **Controle positivo** Control positivo Positive control
 **Produto diagnóstico in vitro** Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device	 **Controle** Control Control
 **Liofilizado** Liofilizado Lyophilized	 **Corrosivo** Corrosivo Corrosive
 **Período após abertura** Período post-abertura Period after-opening	 **Uso veterinário** Uso veterinario Veterinary use
 **Instalar até** Instalar hasta Install before	Ref.: 140214

Labtest