

# CÁLCIO Liquiform

Instruções de Uso

Ref.: 90

ANVISA 10009010067

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

**Uso profissional.**

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

**Princípio** . O cálcio reage com a púrpura de ftaleína em meio alcalino formando um complexo de cor violeta que é medido em 570 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, a cresolfaleína complexona é um dos mais frequentemente utilizados na rotina dos laboratórios clínicos. Nos levantamentos do Colégio de Patologistas Americanos realizados no ano de 1999, 46% dos participantes utilizaram reagentes contendo a cresolfaleína complexona.

O sistema da Labtest utiliza soluções líquido estáveis que permitem a produção de reagente único, estável 8 horas entre 15-25°C e possibilita utilizar uma reação direta, rápida e que não sofre interferência de valores da bilirrubina até 38 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL e triglicérides até 900 mg/dL. Assim, como valores de bilirrubina superiores a 38 mg/dL não são frequentes e a presença da hemoglobina é facilmente prevenida por uma adequada colheita da amostra, a utilização do branco da amostra será aplicada em um número reduzido de amostras.

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 entre 550 e 590 nm.

**Metodologia** . CPC.

## Reagentes

### 1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém tampão 920 mmol/L, pH 12. Reagente corrosivo.

### 2. [R2] - Reagente 2 - Armazenar entre 2-8°C.

Contém o-cresolfaleína complexona 320 µmol/L; 8-hidroxiquinoleína 13 mmol/L e ácido clorídrico 130 mmol/L.

### 3. [CAL] - Padrão - Cálcio 10 mg/dL - Armazenar entre 2-30°C.

Contém formol 0,1%. Após o manuseio armazenar bem vedado para evitar evaporação.

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

Não utilizar o Reagente de Trabalho quando sua absorvância, medida contra a água em 570 nm for  $\geq 0,750$  ou quando mostrar-se turvo ou com sinais de contaminação.

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.

## Material necessário e não fornecido

1. Fotômetro capaz de medir com exatidão a absorvância entre 550 e 590 nm.

2. Pipetas para medir amostras e reagentes.

**Influências pré-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

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, separar o soro ou plasma até uma hora após a coleta. O analito é estável até 2 semanas entre 2-8°C e 4 semanas a 10°C 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.

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

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

## Interferências

Plasmas citratados, oxalataados, fluoretados ou com EDTA fornecem resultados falsamente diminuídos porque formam complexos estáveis com o cálcio.

Valores de bilirrubina até 38 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL e triglicérides até 900 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de triglicérides acima de 900 mg/dL produzem resultados falsamente elevados por interferência fotométrica.

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 absorvância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

$$\text{Hemoglobina(mg/dL)} \equiv \text{Absorvância}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina(mg/dL)} \equiv \text{Absorvância}_{415} \times 467$$

**Minimização da ação de interferentes.** Para amostras com valores de bilirrubina acima de 38 mg/dL, hemoglobina acima de 180 mg/dL e triglicérides acima de 900 mg/dL, utilizar o seguinte procedimento: em duas cubetas marcadas "Branco" e "Teste" pipetar 1,0 mL do Reagente de Trabalho e adicionar 0,02 mL da amostra ao tubo teste, misturar e ler em 570 nm acertando o zero com o branco. Adicionar 0,02 mL de Hemstab - Labtest (Ref.: 30) aos tubos "Branco" e "Teste". Misturar e ler em 570 nm acertando o zero com o branco. Usar a diferença entre as duas leituras do teste para calcular o resultado.

**Preparo do reagente de trabalho.** Misturar 3 volumes do Reagente 1 com 1 (um) volume do Reagente 2 de acordo com o número de testes. Estável 8 horas entre 15-25°C. O Reagente de Trabalho apresenta coloração violeta com absorvância em torno de 0,500. Este fato não compromete o desempenho do reagente.

O CO<sub>2</sub> atmosférico altera significativamente a estabilidade do Reagente 1 e do reagente de trabalho, quando os reagentes são mantidos em recipientes abertos. A modificação da estabilidade é influenciada pelo tempo de exposição e condições ambientais. Sugerimos manter na bandeja do analisador somente o volume suficiente para a realização de uma corrida analítica ou usar as informações do controle da qualidade como indicador da necessidade de realizar nova calibração.

O Reagente de Trabalho contém tampão 700 mmol/L, o-cresolftaleína 80 µmol/L, 8-hidroxiquinoleína 3,4 mmol/L, ácido clorídrico 32 mmol/L.

## Procedimento

### Ver observações 1, 2 e 3.

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

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

Tomar 2 cubetas do fotômetro, rotular "Teste" e "Padrão" e proceder como a seguir.

	Teste	Padrão
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL

### Colocar o fotômetro em 570 nm ou filtro verde laranja (550 a 590).

Tomar a cubeta "Teste" e acertar o zero do instrumento. Em seguida, sem movimentar os controles do instrumento, adicionar 0,02 mL da amostra nesta cubeta. Misturar bem e determinar a absorvância (A<sub>Teste</sub>).

Tomar a cubeta "Padrão" e acertar o zero do instrumento. Em seguida, sem movimentar os controles do instrumento, adicionar 0,02 mL de padrão nesta cubeta. Misturar bem e determinar a absorvância (A<sub>padrão</sub>).

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 cálculo 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.

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

### Exemplo

Absorvância do teste: 1,270  
Absorvância do padrão: 1,346

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = \frac{1,270}{1,346} \times 10 = 9,4$$

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

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

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

## Exemplo

$$\text{Fator de calibração} = \frac{10}{1,346} = 7,43$$

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = 1,270 \times 7,43 = 9,4$$

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

**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:

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

**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. A concentração de cálcio no Calibra H - Labtest é rastreável ao SRM 915 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 16 mg/dL. Quando for obtido um valor igual ou maior que 16 mg/dL, diluir a amostra 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 da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de controle, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e/ou desvios da calibração. Sugere-se procurar atender como limites máximos de controle, especificações de coeficiente de variação, erro sistemático (bias) e erro total capazes de identificar a ocorrência de erros de importância médica.

## Cálcio Ionizado (CaI)

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

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 <sup>7,8</sup>	
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 <sup>7,8</sup>	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<sup>9</sup>

**Exatidão** . Em duas amostras com concentrações de cálcio iguais a 7,0 e 13,0 mg/dL foram adicionadas quantidades diferentes do analito obtendo-se recuperações entre 104 e 111%. O erro sistemático proporcional médio obtido em um valor de 11 mg/dL foi igual a 0,82 mg/dL ou 7,5%.

**Especificidade** . O método proposto foi comparado com um método similar utilizando 60 amostras com valores situados entre 4,95 e 15,2 mg/dL. A comparação resultou na equação da regressão:  $y = 0,996x + 0,2$  e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,995. O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado no nível de decisão 11 mg/dL foi igual a 0,156 mg/dL ou 1,42%. Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e pacientes hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

### Repetitividade - imprecisão intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	10	6,48	0,064	1,0
Amostra 2	10	9,88	0,072	0,72
Amostra 3	10	11,92	0,072	0,60

### Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	10	6,52	0,088	1,34
Amostra 2	10	9,80	0,096	0,98
Amostra 3	10	11,88	0,108	0,91

**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 0,1 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 0,06 mg/dL, correspondendo a uma absorbância igual a 0,0001.

**Efeitos da diluição da matriz** . Duas amostras com valores iguais a 15,7 e 17,0 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 8 encontrou-se recuperações entre 91 e 99%.

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

Na maioria das vezes a hipercalemia indica a presença de hiperparatireoidismo ou de doenças malignas. A hipercalemia 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 (sarcoideose) são causas de hipercalemia.

As causas mais comuns de hipocalcemia são: hipoparatiroidismo idiopático ou cirúrgico, pseudo-hipoparatiroidismo, insuficiência renal, desordens do metabolismo da vitamina D, deficiência de magnésio, drogas, tetania neonatal, pancreatite aguda, transfusões sanguíneas 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 enxágue final da vidraria, deve ter resistividade  $\geq 1$  megaohm.cm ou condutividade  $\leq 1$  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 Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3ª edição, Washington: AACC Press, 1990.

## Referências

1. Baginski ES. Selected Methods of Clinical Chemistry 1982;9:125.
2. Connerty HV, Briggs AR. Am J Clin Pathol 1966;45:290.
3. Morin LG. Am J Clin Pathol 1974;61:114.
4. Pottgen P, Davis ER. Clin Chem 1976;22:1752.
5. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
6. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
7. Burtis CA, Ashwood ER. Textbook of Clinical Chemistry, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders, 1986:2175-2211.
8. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Ranges, 5a. edição, Washington: AACC Press, 2005: 45-46.
9. Labtest: Dados de arquivo.

## Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo
Cálcio Liquiform	90-2/60	 2 x 45 mL
		 2 x 15 mL
		 1 x 5 mL
Cálcio Liquiform Labmax 560/400	90-4/36	 4 x 27 mL
		 4 x 9 mL
		 1 x 5 mL

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br) ou entre em contato com o SAC.

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

O número de testes em aplicações automáticas **depende dos parâmetros de programação.**

## 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.

### **Labtest Diagnóstica S.A.**

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33240-152  
Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - [www.labtest.com.br](http://www.labtest.com.br)

**Serviço de Apoio ao Cliente** | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)  
e-mail: [sac@labtest.com.br](mailto:sac@labtest.com.br)




























Edição: Março, 2000  
Revisão: Março, 2013  
Ref.: 041122(03)

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

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

Ref.: 280322 |