

CÁLCIO Liquiform

Instruções de Uso

Ref.: **90**
MS 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 cresoltaleína 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 cresoltaleína 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.

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

Contém o-cresoltaleína 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 absorbância, 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 absorbância 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 hemodíalise.

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 transmitam 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, oxalatados, 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 absorbância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

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

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 absorbância em torno de 0,500. Este fato não compromete o desempenho do reagente.

O CO₂ 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-cresolfaleína 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 absorbância (A_{teste}).

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 absorbância (A_{padrão}).

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.

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

Exemplo

Absorbância do teste: 1,270
Absorbância 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.

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

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

Exemplo

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

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

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:

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. As concentrações de cálcio na linha Calibra Labtest são rastreáveis ao SRM 915b do NIST;

Intervalo de calibrações

Deve-se recalibrar o sistema nas seguintes situações:
Calibração de 2 ou 3 pontos ao mudar de lote;
Calibração de 2 ou 3 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 (Cal)

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

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 ^{7,8}	
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 ^{7,8}	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 desempenho⁹

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 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: 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 ≥ 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 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	RI1	2 x 45 mL
		RI2	2 x 15 mL
		CAL	1 x 5 mL
Cálcio Liquiform Labmax 560/400	90-4/36	RI1	4 x 27 mL
		RI2	4 x 9 mL
		CAL	1 x 5 mL

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 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: Julho, 2014
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 Calibrator Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrator Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (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	