

Cálculo

Calcium | Calcio
Ref. 12.001.00

Responsável Técnico:
Dr. Gilson Sérgio Pizzo
CRF MG – 5310
MS 80027310207

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 a orto-cresolftaleína complexona, em meio alcalino, um complexo colorido que pode ser medido em 550-590 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 como 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 | 2-Amino metil propanol ≥ 1% v/v; monoetanolamina ≥ 1% v/v e estabilizantes. | | |
| R 2 | Ácido clorídrico ≥ 0,1% v/v; orto-cresolftaleína complexona ≥ 0,001% p/v; 8-hidroxiquinoleína ≥ 1 mmol/L e conservante. Cloreto de cálcio em concentração equivalente à 10 mg/dL e conservante. | | |
| STD | Rastreável ao material de referência NIST 3109a. | | |

ESTABILIDADE EM USO

- A estabilidade do produto (R1, R2 e STD) em uso é de 24 meses, desde que seguidas as condições de armazenamento recomendadas (15 a 30 °C).

TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO

A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Reagente de Trabalho:

Misturar na proporção: 1 parte de R1 + 1 parte do R2. Homogeneizar suavemente. Estável por 24 horas de 15 a 30 °C.

OBS: A absorbância do reagente de trabalho deve ser inferior a 0,200 em 570 nm, em equipamento zerado com água purificada.

STD: Pronto para uso.

B) INTERVALO OPERACIONAL

O intervalo operacional do produto é de 0,91 mg/dL a 18,00 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 |

REF

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 |
| Reagente de Trabalho | 1,0 mL | 1,0 mL | 1,0 mL |

2. Homogeneizar bem e incubar os tubos durante 10 minutos de 15 a 30 °C.

3. Medir a absorbância do Padrão e da Amostra frente ao Branco do Reagente a 570 nm (550-590). A cor final da reação é estável por 30 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 = 0,220

Absorbância do Padrão = 0,250

Cálcio (mg/dL) = $\frac{0,220}{0,250} \times 10 = 8,8$ 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 = $\frac{10}{0,250} = 40$

Cálcio (mg/dL) = 0,220 x 40 = 8,8 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. Aumentos no soro de PTH ou vitamina D são geralmente associados com hipercalcemia. Aumento nos níveis de cálcio sérico pode ser observado na mieloma múltiplo e outras doenças neoplásicas. Hipocalcemia pode ser observada por exemplo no hipoparatiroidismo, nefrose e pancreatite.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES

Hemólise, Icterícia e Lipemia: Hemoglobina > 500 mg/dL / Bilirrubina > 35 mg/dL / Triglicérides > 1000 mg/dL interferem na dosagem.

Medicamentos: consultar referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade: Limite de detecção: 0,58 mg/dL / Limite de quantificação: 0,91 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 $y = 0,990x + 0,090$ e coeficiente de correlação $r = 0,9984$. Utilizando esta equação o erro sistemático total estimado de 0,80% para um nível de 5,0 mg/dL e -0,25% para um nível de 12,0 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 |
| 10,2688 | 80 | 0,0564 | 0,5 | 0,1332 | 1,3 |
| 13,2685 | 80 | 0,0229 | 0,2 | 0,1021 | 2,1 |
| 16,9265 | 80 | 0,0118 | 0,1 | 0,1542 | 0,9 |

%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 FISPO 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 partículas 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 570 nm (550-590).
- 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.biotechnica.ind.br ou pelo telefone (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@biotecnicaltada.com.br

AUTOMAÇÃO

Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores.

Os protocolos estão disponíveis em www.biotechnica.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 ortho-cresolphthalein complexone, in alkaline medium, a colored complex that can be measured at 550-590 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 (heparin) 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 | 2-Amino methyl propanol> 1% v/v; Monoethanolamine> 1% v/v and stabilizers. | | |
| R 2 | Hydrochloric acid> 0.1% v / v; Ortho-cresolphthalein complexone> 0.001% w / v; 8-hydroxyquinoline > 1% mmol / L and preservative. | | |
| STD | Calcium chloride in concentration equivalent to 10 mg/dL and preservative. Traceable to reference material NIST 3109a. | | |

STABILITY IN USE

- The stability of the product (R1,R2 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

Working Reagent:

Mix in proportion: 1 part of R1 + 1 part of R2. Homogenize gently. Stable for 24 hours at 15 to 30 ° C.

NOTE: The absorbance of the working reagent should be less than 0.200 at 570 nm in equipment cleared with purified water.

STD: Ready for use.

B) OPERATING INTERVAL

The operating range of the product is from 0.91 mg / dL to 18.00 mg / dL.

For higher values, dilute the sample with 150 mM NaCl (0.9%), carry out a new dosage and multiply the result obtained 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 | 13.002.00 |
| Normal Control Serum – Quantinorm | 13.003.00 |
| Pathological Controle Serum – QuantiAlt | 13.004.00 |

REF

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 570 nm (550-590 nm). The final reaction is stable for 30 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 = 0,220

Standard Absorbance = 0,250

Calcium (mg / dL) = $\frac{0,220}{0,250} \times 10 = 8,8$ 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 = $\frac{10}{0,250} = 40$

Cálcium (mg/dL) = 0,220 x 40 = 8,8 mg/dL

Urine 24 hours:

Calcium urine (mg / dL) = $\frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times \text{Standard Concentration (mg / dL)}$

Calcium (mg/24h) = $\frac{\text{urine calcium (mg/dL)} \times \text{urinary volume of 24 hr (mL)}}{100}$

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 the 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

Hemolyzed, Jaundice and Lipemic Sera: Hemoglobin > 500 mg/dL, Bilirubin > 35 mg/dL, Triglyceride > 1000 mg/dL. Interfere in the dosage

Drugs: see recommended reference (Young, 2000).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity: Detection limit: 0,58 mg/dL / quantification limit: 0,91 mg/dL

Analytical Specificity: The product determines calcium specifically in the presence of other interfering substances in the sample, up to the concentrations stated above.

Accuracy: The method was compared with a similar method for the determination of 40 samples in duplicate. The regression equation obtained was $y = 0,990x + 0,090$ and the correlation coefficient $r = 0,9984$. Using this equation the total systematic error estimated is 0,80% to a level of 5,0 mg/dL and -0,25% to a level of 12,0 mg/dL.

Precision: Determined using samples in 03 levels of decision, with two runs in duplicate per day during 20 days, being obtained:

| Samples (mg/dL) | Repetitions | Within-Run Precision | | Total Precision | |
|-----------------|-------------|----------------------|-----|-----------------|-----|
| | | SD | %CV | SD | %CV |
| 10,2688 | 80 | 0,0564 | 0,5 | 0,1332 | 1,3 |
| 13,2685 | 80 | 0,0229 | 0,2 | 0,1021 | 2,1 |
| 16,9265 | 80 | 0,0118 | 0,1 | 0,1542 | 0,9 |

% CV: Coefficient of variation expressed as a percentage; SD: Standard Deviation

RESIDUAL RISK, WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Use PPE according to Good Clinical Laboratory Practice.
- Do not mix reagents from different lots.
- Do not exchange reagent bottle caps to avoid cross-contamination.
- Do not use the reagent when it has a visual characteristic that is not in accordance with the product's MSDS requirements.
- Use specific glass pipettes and disposable tips for each sample, control, standard / calibrator, and reagent.
- The laboratory shall establish the chemical, microbiological and particulate requirements for water prior to use for each of its applications and shall define the specifications or types of water that meets them. Once the required purity has been defined, the purification system must be validated and it is important to ensure that the water obtained continues to meet the specifications by means of periodic checks.
- Proper cleaning and drying of the used material are key factors for the stability of the reagents and obtaining correct results.

REFERENCE RANGES

| | mg/dL | mmol/L |
|------------------|-------------|---------------|
| Serum and Plasma | 8,6 - 10,3 | 2,15 - 2,57 |
| | mg/24 hours | mmol/24 hours |
| Urine | Up to 300 | Up to 7,49 |

These values are intended for orientation only. It's recommended that each lab establishes its own reference range. Conversion for International System of Units (SI): mmol/L Calcium (mg/dL) X 0,25 = Calcium (mmol/L)

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or photometer able to read at 570 nm (550-590).
- Pipettes and micropipettes.
- Clock or chronometer.
- Assay tubes.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Discard the reactions surplus according to Good Laboratory Practice in a proper place for potentially infective material.
- The information for Disposing, Security and First Aid are described in the Manual Safety Data Sheet (MSDS) of this product available at www.biotechnica.ind.br or calling for +55 35 3214 4646

QUALITY ASSURANCE / CUSTOMER TECHNICAL SERVICE

Before being approved for use BioTécnica reagents are tested in the Quality Control Department. The quality of the reagents is assured up to the expiring date stated in the label of the external packaging, since it is stored and transported in the specified conditions. The quality control data concerning this product (batch printed on the labels

of reagent bottles) or any technical doubt on handling this product or this procedure, contact us calling +55 35 3214 4646, your local distributor or sending an e-mail: sac@biotecnicaltda.com.br

AUTOMATION

This product is compatible to the most types of biochemical automatic analysers. The applications are available at www.biotecnicaltda.ind.br

ESPAÑOL

FINALIDAD

Kit destinado a la determinación de Calcio en suero, plasma y orina. Uso en diagnóstico *In vitro*.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Conservar de 15 a 30 °C.
- Mantener al abrigo de la luz.
- Estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
- No usar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El calcio forma con la o-cresolftaleína complejona, en medio alcalino, un complejo coloreado que puede ser medido a 550-590 nm. La intensidad del color formado es proporcional a la cantidad de calcio presente en la muestra.

MUESTRAS: TIPO, RECOLECCIÓN, MANIPULACIÓN, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN

Tipo de Muestra: Suero, plasma (Heparina) y orina.

Recolección, manipulación y preparación: Realizar la recolección de las muestras de acuerdo con las Buenas Prácticas del Laboratorio Clínico. Las muestras analizadas deben ser tratadas como material potencialmente infectantes.

Conservación: El calcio en suero y plasma (heparina) es estable por 14 días conservado en temperatura de 4 a 8 °C y 6 meses conservado en temperatura de -20 °C.

Orina: Recolectar orina de 24 horas, en un frasco con 20 a 30 mL de solución de HCl 6 mol/L para prevenir la precipitación de sales de calcio. Homogeneizar bien, medir el volumen y proceder al ensayo.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

| |
|------------|
| R 1 |
|------------|

2-Amino-2-metil-1-propanol ≥ 1% v/v;

monoetanolamina ≥ 1% v/v y estabilizantes.



| |
|------------|
| R 2 |
|------------|

Ácido clorhídrico ≥ 0,1% v/v; o-cresolftaleína complejona ≥ 0,001% p/v; 8-hidroxiquinolina ≥ 1% mmol/L y conservante.

