



## INSTRUÇÕES DE USO (Versão Ago/23)

# CÁLCIO

## (Cresolftaleína complexona) – Método Colorimétrico

### FINALIDADE

O conjunto é um sistema que se destina à determinação do cálcio nas seguintes amostras humanas: soro, plasma e urina.

### PRINCÍPIO DE AÇÃO

O cálcio reage com a cresolftaleína complexona (púrpura de ftaleína) em meio alcalino formando um complexo intensamente corado com máximo de absorção em 570 nm. A absorção em 570 nm do complexo é proporcional à concentração de cálcio na amostra. O método proposto é facilmente automatizável, adaptando-se a todos os analisadores automáticos disponíveis.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

O teor de cálcio num adulto corresponde ligeiramente a mais de 1 kg (25000 mmol), ou seja, cerca de 2% do peso corporal. Deste, 99% está presente sob a forma de hidroxapatita de cálcio nos ossos e menos de 1% está presente no ECS (espaço extracelular) ou ICS (espaço intracelular) extra ósseo. O nível de cálcio no soro no ECS (aprox. 100 mmol) está em equilíbrio dinâmico com a fração rapidamente permutável de cálcio ósseo. Os íons de cálcio afetam a capacidade de contração do coração e da musculatura esquelética e são essenciais para o funcionamento do sistema nervoso. Além disso, os íons de cálcio desempenham um papel importante na coagulação sanguínea e na mineralização óssea. No plasma, o cálcio está ligado, numa grande proporção, às proteínas (cerca de 40%), estando 10% presente sob a forma de complexos inorgânicos e 50% como cálcio livre (ionizado). O equilíbrio do cálcio no organismo é regulado pelo hormônio da paratireóide (PTH), calcitriol (CT) e calcitonina.

O teste é usado para o diagnóstico e monitorização da hipocalcemia (deficiência de cálcio) e hipercalemia (excesso de cálcio) no soro. O sintoma característico da hipocalcemia é o tétano latente ou manifesto e osteomalacia. A hipocalcemia é causada pela ausência ou deficiência do funcionamento da paratireóide ou deficiência na síntese da vitamina D. A hipercalemia é provocada por um aumento da mobilização de cálcio no sistema esquelético (osteoporose) ou por um aumento da absorção intestinal. A maior parte dos casos são causados pelo hiperparatireoidismo primário (pHPT) ou metástases ósseas do carcinoma da mama, próstata ou tireóide e carcinoma brônquico.

A grande importância da determinação do cálcio na urina reside na diferenciação entre hipercalemiúria e hipocalciúria e no esclarecimento da nefrolitíase.

### REAGENTES

#### Apresentação com 200 mL:

**1. Tampão:** 01 frasco com 100 mL de solução tamponada em pH 9,8, contendo cianeto de potássio 7,7 mmol/L. Conservar entre 15-25°C.

**2. Reagente de Cor:** 01 frasco com 100 mL de solução, contendo cresolftaleína complexona 0.1 mmol/L e 8-hidroxiquinoleína 35 mmol/L. Conservar entre 15 - 25°C.

**3. Padrão:** 01 frasco com 3,0 mL de solução aquosa de íons cálcio 10 mg/dL, correspondendo a 2,5 mmol/L. Conservar entre 15-25°C.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro  
Centrífuga  
Cronômetro  
Vidraria  
Pipetas manuais ou automáticas  
Água destilada ou deionizada

### CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser transportados e armazenados em temperatura ambiente, na faixa de 15-25°C.

Após a manipulação, sugere-se armazenar o **Padrão** entre 2-8°C para evitar evaporação.

### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

1. Somente para uso diagnóstico "in vitro".
2. Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
3. O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, serem calibrados corretamente e receberem manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
4. Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
5. Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
6. Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.
7. Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.
8. O **Padrão (3)** é fornecido em concentração usual fixa. O desempenho do ensaio pode ser afetado se este reagente for modificado ou não for armazenado nas condições recomendadas.
9. Ver cuidados no armazenamento e transporte dos reagentes.
10. Usar luvas descartáveis quando manusear reagentes.
11. Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
12. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
13. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.
14. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
15. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

### AMOSTRA

#### Soro ou Plasma heparinizado.

Sob refrigeração (2-8°C), o cálcio no soro ou plasma é estável por 15 dias.

*Nota: O soro ou o plasma devem ser separados das hemácias até, no máximo uma hora após a coleta, devido ao aumento da permeabilidade das hemácias aos íons cálcio. Outros anticoagulantes, diferentes da Heparina, são quelantes de cálcio.*

#### Urina

Utilizar amostra coletada no período de 24 horas, não havendo necessidade de adicionar conservantes.

#### Acidificação urinária

Homogeneizar a urina, medir o volume e separar uma amostra de cerca de 5 mL e adicionar uma gota de HCl concentrado. Tal procedimento transforma todos os sais

de cálcio presentes na urina em sais solúveis. Centrifugar por 10 minutos a 3000 RPM. Utilizar o sobrenadante para proceder ao ensaio.

O cálcio é estável por 1 semana quando conservado em temperatura de 2 - 8°C.

### PROCEDIMENTO

**Preparo do Reagente de Trabalho:** Misturar volumes iguais dos Reagentes **Tampão (1)** e **Reagente de Cor (2)** em **frasco de plástico** e homogeneizar bem. **Aguardar 15 minutos antes do uso.** Este reagente é estável por 12 horas na temperatura ambiente. Recomenda-se preparar apenas a quantidade necessária para 1 dia de trabalho.

#### Dosagem (Soro, Plasma heparinizado e Urina):

*Nota: Recomenda-se o uso de vidraria tratada com ácido clorídrico 50% (v/v) a fim de se evitar contaminação com cálcio.*

#### Tomar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Padrão	-	0,01 mL	-
Amostra	-	-	0,01 mL
Reagente de Trabalho	1,0mL	1,0mL	1,0mL

Homogeneizar bem, aguardar em temperatura ambiente (15-25°C) durante 2 minutos e determinar as absorbâncias do teste e do padrão em 570 nm acertando o zero com o branco.

Como procedimento alternativo, pode-se realizar as dosagens diretamente nas cubetas do espectrofotômetro, uma a uma, zerando-se o aparelho com o Reagente de Trabalho e adicionando-se a amostra em seguida para se obter a absorbância do teste. Desta maneira, contaminações eventuais serão naturalmente corrigidas.

### CÁLCULOS

- Cálcio (mg/dL) = (Abs. da Amostra ÷ Abs. do Padrão) X 10
- Fator de calibração = 10 ÷ absorbância do Padrão
- Cálcio (mg/dL) = Absorbância da amostra x Fator
- Cálcio (mmol/L) = mg/dL x 0,25
- Urina (mg/24h) = (mg/dL x volume de 24h em mL) ÷ 100

#### Exemplo:

##### Soro ou Plasma:

- Absorbância do teste = 0,250      Absorbância do padrão = 0,260
- Cálcio (mg/dL) = (0,250 ÷ 0,260) x 10 = 9,6
- Fator de calibração = 10 ÷ 0,260 = 38,5
- Cálcio (mg/dL) = 38,5 x 0,250 = 9,6

##### Úrina:

- Absorbância do teste = 0,160      Absorbância do padrão = 0,260
- Volume urinário = 1800 mL/24h
- Cálcio (mg/dL) = (0,160 ÷ 0,260) x 10 = 6,1
- Cálcio (mg/24h) = (6,1 x 1800) ÷ 100 = 109,8

**Cálcio iônico:** O método descrito não é recomendado para a determinação do cálcio iônico no soro ou plasma através de cálculos que envolvem as concentrações de albumina e proteínas totais. Para tal, usar equipamentos que dispõem de eletrodos íon seletivos.

## VALORES DE REFERÊNCIA

Soro ou Plasma	8,8 a 11,0 mg/dL
Urina	60 a 180 mg / 24 horas

## LINEARIDADE

A reação é linear entre 0,7 e 19 mg/dL. Para valores acima de 19 mg/dL diluir a amostra com água destilada ou deionizada e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

## DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

**Sensibilidade:** 100%.

**Exatidão:** A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia da cresolfaleína complexona) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,98 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi:  $y=0,964x - 0,139$ , que demonstra uma exatidão de 98%.

**Precisão:**

**Repetibilidade:** realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	7,2
Desvio Padrão	0,2
Coefficiente de Variação	2,1

**Reprodutibilidade:** A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	7,7
Desvio Padrão	0,2
Coefficiente de Variação	2,3

**Sensibilidade Analítica:** O método apresenta uma variação de absorvância em 570 nm igual a 0,054 em cada acréscimo de 1mg/dL na concentração de ácido úrico. O limite de detecção do método é igual a 0,7mg/dL.

## CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

## AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis, se solicitadas.

## INTERFERENTES

**Resultados falsamente diminuídos:** Plasmas coletados com citrato, oxalato, fluoreto ou EDTA, formam complexos estáveis de cálcio.

Hemoglobina acima de 150 mg/dL.

**Drogas que elevam o cálcio urinário:** Colestiramina, mandrolona, paratormônio injetável, vitamina D.

**Fatores que diminuem a calciúria:** Urina alcalina, fosfato de sódio, diuréticos tiazídicos.

**Fator que provoca o aumento da calciúria:** O uso de torniquete por mais de 3 minutos.

Hiperlipemia, ácido ascórbico mesmo em elevadas concentrações (acima de 25 mg/dL) e bilirrubina até 35 mg/dL não interferem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Connerty, H.V., Briggs, A.R.: Am.J. Clin. Path. 45:290,1966.
2. Pöttgen, P., Davis, E.R.: Clin. Chem. 22:1752, 1976
3. Morin, L.G. Am. J. Clin. Pathol. 61:114,1974
4. Katal: Dados de arquivo.

## APRESENTAÇÃO

200 mL	Volume
1. Tampão	1 x 100 mL
2. Reagente de Cor	1 x 100 mL
3. Padrão	1 x 3 mL

## CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

1. A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

## ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

**(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407**

**e-mail: [sac@katal.com.br](mailto:sac@katal.com.br)**



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG – Brasil – CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga - CRBio 076936/04-D

MS: 10377390180

**Data da última revisão: 29/08/2023**

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Fabricado por
	Número de Lote