CÁLCIO

MÉTODO:
Arsenazo III.

FINALIDADE:
Reagente diagnóstico para determinação quantitativa de cálcio no soro, plasma heparinizado ou urina em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
Os íons de cálcio têm importância na mineralização esquelética e um papel vital nos processos de coagulação sanguínea, condução neuromuscular, manutenção do tono normal e na excitabilidade do músculo esquelético e cardíaco. O cálcio está também envolvido na síntese glandular e na regulação das glândulas exócrinas e endócrinas na preservação da integridade da membrana celular e na sua permeabilidade. No plasma, o cálcio está ligado à proteínas (aproximadamente 40%), na forma livre (50%) e apenas 10 % na forma de complexos inorgânicos. O balanço das concentrações de cálcio é regulado pelo hormônio da paratireoide (PTH), calcitriol e calcitonina. A hipocalcemia (deficiência de cálcio) causa tetania ou osteomalácia e pode ser devido à ausência ou função diminuída da paratireoide e síntese de vitamina-D. A hipercalcemia pode ser ligada à osteoporose ou aumento da absorção intestinal e a maioria dos casos é devida ao hiperparatireoidismo ou metástase de carcinomas mamários, prostáticos ou branquiais.

FUNDAMENTO:
O cálcio reage com o arsenazo III em meio levemente ácido formando um complexo de coloração azul intenso e cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de cálcio presente na amostra.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

Tampão	≥40	mmol/L
Arsenazo III	≥0,2	mmol/L
Surfactante e conservantes	<2,0	g/L

MODO DE USO:
O reagente está pronto para o uso e não depende de preparo.

ESTABILIDADE:
O reagente armazenado entre 2 e 8 °C é estável até a data de validade impressa no rótulo.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 50 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:

- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:

- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 25 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis.
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise e urina 24 horas.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
O cálcio no soro ou plasma é estável por 1 semana se conservado entre 2 e 8 °C ou 6 meses a -20 °C. Ainda assim, recomenda-se realizar o ensaio com amostras recém coletadas e não usar amostras hemolisadas, lipêmicas ou ictéricas. As amostras para medição de cálcio não devem ser colhidas com anticoagulantes como o EDTA (quelante de cálcio), citrato (complexa com Ca^{+2}), oxalato e fluoreto (precipitam cálcio).
O cálcio na urina é estável por 1 semana entre 2 e 8 °C.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Bilirrubina	20 mg/dL
Hemoglobina	200 mg/dL
Triglicérides	350 mg/dL

Amostras hemolisadas interferem devido ao magnésio liberado dos eritrócitos. Valores de hemoglobina maiores que 60 mg/dL interferem significativamente quando λ = 600 nm[11].

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

Preparo da amostra de urina:
1- Utilizar amostra de urina colhida no período de 24 horas
2- Homogeneizar a urina e medir o volume em mL
3- Separar uma amostra de cerca de 5 mL e adicionar 1 gota de HCl concentrado
4- Centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm
5- Usar o sobrenadante para a realização do teste
B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 650 nm (640 a 660 nm)
Temperatura: 37 °C
Tipo de reação: Ponto final crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	Tubos ou cubetas		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
Água	10 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	10 µL	---
Amostra	---	---	10 µL
Reagente	1000 µL	1000 µL	1000 µL

2- Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos entre 25 e 37 °C
3- Medir a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs). A cor final da reação é estável por 60 minutos

D-Cálculo com padrão:

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = \frac{\Delta\text{Abs}_{\text{Amostra}}}{\Delta\text{Abs}_{\text{Padrão}}} \times \text{Concentração do calibrador/padrão}$$

Exemplo:
ΔAbs $_{\text{Amostra}}$: 0,298
ΔAbs $_{\text{Padrão}}$: 0,275
Concentração do Padrão: 10 mg/dL

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = \frac{0{,}298}{0{,}275} \times 10 \text{ mg/dL}$$

Cálcio (mg/dL) = **10,84 mg/dL**

E-Cálculo com fator:
Pela Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser aplicado:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Cálcio (mg/dL)} = \Delta\text{Abs}_{\text{Amostra}} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{10 \text{ mg/dL}}{0{,}275}$$

Fator de calibração = 36,36
Cálcio (mg/dL) = 0,298 × 36,36
Cálcio (mg/dL) = **10,84 mg/dL**

F-Cálculo para urina de 24 horas:

$$\text{Cálcio (mg/24 h)} = \frac{\text{mg/dL}}{100} \times \text{Volume Urinário (em mL)}$$

G-Cálculo do Cálcio Ionizável:

$$\text{Cálcio Ionizável (mg/dL)} = \frac{6 \times \text{Ca} - (0{,}19 \times \text{PT}) + \text{ALB}}{(0{,}19 \times \text{PT}) + \text{ALB} + 6}$$

Ca = Cálcio sérico (mg/dL)
PT = Proteína Total (g/dL)
ALB = Albumina (g/dL)

CÁLCIO

VALORES DE REFERÊNCIA:

Soro e plasma		
Cordão Umbilical	8,2 – 11,2 mg/dL	(2,05 – 2,80 mmol/L)
Prematuros	6,2 – 11,0 mg/dL	(1,55 – 2,75 mmol/L)
0 a 10 dias	7,6 – 10,4 mg/dL	(1,90 – 2,60 mmol/L)
Lactentes	9,0 – 11,0 mg/dL	(2,25 – 2,75 mmol/L)
2 a 12 anos	8,8 – 10,8 mg/dL	(2,20 – 2,70 mmol/L)
Adultos	8,8 – 11,0 mg/dL	(2,20 – 2,75 mmol/L)
Cálcio Iônico		
1 a 18 anos	4,8 – 5,5 mg/dL	(1,20 – 1,38 mmol/L)
Adultos	4,6 – 5,4 mg/dL	(1,15 – 1,35 mmol/L)
Urina		
Dieta isenta de Ca^{2+}	5,0 – 40 mg/24 h	(1,25 – 10 mmol/24 h)
Dieta restrita de Ca^{2+} *	<180 mg/24 h	(<45 mmol/24 h)
Dieta irrestrita de Ca^{2+}	<280 mg/24 h	(<70 mmol/24 h)

*Dieta com até 500 mg/24 h

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 mg/dL = 0,25 mmol/L.

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada quando solicitada.

LINEARIDADE:
Para amostras de soro/plasma: A reação é linear até a concentração de 20,0 mg/dL (5,0 mmol/L). os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com água qualidade reagente e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

Para amostras de urina: A reação é linear até a concentração de 16,0 mg/dL (3,99 mmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com água qualidade reagente e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
Para amostras de soro/plasma: O limite inferior de detecção é 0,16 mg/dL (0,04 mmol/L).

Para amostras de urina: O limite inferior de detecção é 0,16 mg/dL (0,04 mmol/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25* Amostra de soro/plasma:	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	7,0	0,142	2,88
Amostra 2	10,9	0,202	1,30
Amostra 3	14,2	0,140	0,99

INTRAENSAIO *n = 25* Amostras de Urina	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	15,83	0,26	1,63
Amostra 2	5,31	0,04	0,74
Amostra 3	0,35	0,01	3,16

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25* Amostra de soro/plasma:	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	7,0	0,184	2,63
Amostra 2	10,9	0,252	2,24
Amostra 3	13,9	0,231	1,64

INTRAENSAIO *n = 25* Amostras de Urina	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	15,56	0,29	1,89
Amostra 2	5,29	0,05	1,00
Amostra 3	0,364	0,03	7,78

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Para amostras de soro/plasma: A Foram realizados testes com 50 amostras comparando-se o reagente CÁLCIO (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:

$y = 0{,}984x + 0{,}122$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,994

Para amostras de urina: A Foram realizados testes com 61 amostras comparando-se o reagente CÁLCIO (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:

y = 1,082x + 0,124 coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,986

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	**VOLUME**	**CONTEÚDO**
CÁLCIO (Universal)	VYT010308701EN	40 mL	2 x 20 mL
	VYT010307193EN	100 mL	4 x 25 mL
	VYT010307543EN	200 mL	2 x 100 mL
CÁLCIO (BM SERIES I)	VYT010307368EN	80 mL	4 x 20 mL
	VYT010307551EN	80 mL	2 x 40 mL
CÁLCIO (BM SERIES III)	VYT010307558EN	120 mL	2 x 60 mL

ANVISA: 81692610177

BIBLIOGRAFIA:

1. Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 7th Ed. Philadelphia: Elsevier (Saunders), 2015.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
7. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
8. Kenny D et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:585, 1999.
9. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
10. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.
11. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:
Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

	Data de Fabricação
	Data de Validade
	Limite de Temperatura
REF	Código do Produto
	Consultar Instruções de Uso
LOT	Número do Lote
IVD	Produto para Diagnóstico In Vitro