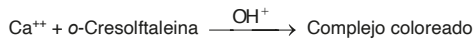


**Determinación cuantitativa de calcio IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

La medición del calcio se basa en la formación de un complejo coloreado entre el calcio y la o-cresoltaleina, en medio alcalino:


 La intensidad del color formado es directamente proporcional a la concentración de calcio presente en la muestra ensayada<sup>1,2,3</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

El calcio es el mineral más abundante e importante del cuerpo humano, el 99 % se halla en los huesos.

 Una disminución de los niveles de albúmina causa una disminución del calcio en suero. Niveles bajos de calcio pueden atribuirse a hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, déficit de vitamina D, malnutrición o mala absorción. La mayoría de las causas de hipercalcemia son debidas a enfermedades oncológicas, intoxicación por vitamina D, aumento de la retención renal, osteoporosis, sarcoidosis, tirotoxicosis e hiperparatiroidismo<sup>1,6,7</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R 1</b>	Etanolamina	500 mmol/L
Tampón	Cloroformo	15 mmol/L
	Metanol	5700 mmol/L
<b>R 2</b>	o-Cresoltaleína	0,62 mmol/L
Cromógeno	8-Hidroxiquinoleína	69 mmol/L
<b>CALCIUM CAL</b>	Patrón primario acuoso de Calcio	10 mg/dL

**PRECAUCIONES**

R1: H302+H312+H332-Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. H314- Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H370-Provoca daños en los órganos.

CAL: EUH210-Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

**PREPARACIÓN**

Los reactivos y el patrón están listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 570 nm  $\geq$  0,22.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador con cubeta para lecturas a 570 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 2,3)</sup>

**MUESTRAS**

 - Suero o plasma<sup>1</sup>: Separado lo antes posible de los hematies. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que son fuertes quelantes de calcio.

 - Orina<sup>1</sup>: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de calcio. Antes de la recogida adicionar al contenedor 10 mL de ácido nítrico al 50% (v/v). Anotar el volumen.

Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: El calcio es estable 10 días a 2-8°C.

**PROCEDIMIENTO**

- Condiciones del ensayo:
  - Longitud de onda: ..... 570 nm (550-590)
  - Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
  - Temperatura: ..... 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta.<sup>(Nota 5)</sup>

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	1,0	1,0	1,0
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón <sup>(Nota 1,4)</sup> (µL)	--	20	--
Muestra (µL)	--	--	20

- Mezclar e incubar 5 minutos a temperatura ambiente (15-25°C)/37°C.
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 40 minutos.

**CÁLCULOS**

Suero o plasma

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 10 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de calcio en la muestra}$$

Orina 24 h

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 10 (\text{Conc. Patrón}) \times \text{vol. (dL) orina/24 h} = \text{mg/24 h de calcio en la muestra}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,25= mmol/L.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**VALORES DE REFERENCIA<sup>1</sup>**

Suero o plasma:

Adultos	8,5-10,5 mg /dL	$\cong$ 2,1-2,6 mmol/L
Niños	10-12 mg/dL	$\cong$ 2,5-3,0 mmol/L
Recién nacidos	8-13 mg/dL	$\cong$ 2,00-3,25 mmol/L

Orina:

Adultos	50-300 mg/24 h	$\cong$ 1,25-7,50 mmol/24 h
Niños	80-160 mg/24 h	$\cong$ 2,00-4,00 mmol/24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**
**Rango de medida:** Desde el límite de detección de 0,07 mg/dL hasta el límite de linealidad de 35 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
	Media (mg/dL)	SD	9,34	16,27
Media (mg/dL)	9,14	16,02	0,20	0,37
SD	0,07	0,11	2,16	2,27
CV (%)	0,74	0,68		

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,044 (A).

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

 Coeficiente de correlación (r)<sup>2</sup>: 0,981.

Ecuación de la recta de regresión: y= 0,8234x + 1,5484.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**INTERFERENCIAS**

 Triglicéridos  $\leq$  1,25 g/L, no interfieren<sup>1,2,3</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del calcio<sup>4,5</sup>.

**NOTAS**

- CALCIUM CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- Se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso. Si se usa material de vidrio se deberá lavar con ácido nítrico diluido con agua (1/2), enjuagar varias veces con agua destilada y secar antes de su uso.
- La mayoría de detergentes destinados a uso del laboratorio contienen agentes quelantes. Trazas de los mismos, como consecuencia de un mal aclarado del material, invalida la determinación.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

**BIBLIOGRAFÍA**

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8); 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3); 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

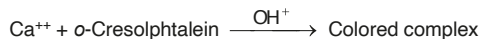
Ref:1001061	Cont.	R1:1 x 150 mL, R2: 1 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref:1001062		R1:1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

## Quantitative determination of calcium IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

The measurement of calcium in the sample is based on formation of color complex between calcium and o-cresolphthalein in alkaline medium:



The intensity of the colour formed is proportional to the calcium concentration in the sample<sup>1,2,3</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Calcium is the most abundant and one of the most important minerals in the human body. Approximately 99% of body calcium is found in bones. A decrease in albumin level causes a decrease in serum calcium.

Among causes of hypercalcemia are cancers, large intake of vitamin D, enhanced renal retention, osteoporosis, sarcoidosis, thyrotoxicosis, hyperparathyroidism.

Low levels of calcium are found in hypoparathyroidism, pseudohypoparathyroidism, vitamin D deficiency, malnutrition and intestinal malabsorption<sup>1,6,7</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

<b>R 1</b>	Ethanolamine	500 mmol/L
Buffer	Chloroform	15 mmol/L
	Methanol	5700 mmol/L
<b>R 2</b>	o-Cresolphthalein	0,62 mmol/L
Chromogen	8-Hidroxyquinolein	69 mmol/L
<b>CALCIUM CAL</b>	Calcium aqueous primary standard	10 mg/dL

### PRECAUTIONS

R1: H302+H312+H332-Harmful if swallowed, in contact with skin or inhaled. H314-Causes severe skin burns and eye damage. H370-Causes damage to organs.

CAL: EUH210-Safety data sheet available on request.

Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

### PREPARATION

All the reagents are ready to use.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 570 nm  $\geq$  0,22.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 570 nm.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment (Note 2,3).

### SAMPLES

- Serum or plasma<sup>1</sup>: Separated from cells as rapidly as possible. Blood anticoagulants with oxalate or EDTA are not acceptable since these chemicals are strong calcium chelators.

- Urine<sup>1</sup>: Collect 24 hour urine specimen in calcium free containers. The collecting bottles should contain 10 ml of diluted Nitric acid (50% v/v). Record the volume.

Dilute a sample 1/2 in distilled water. Mix. Multiply results by 2 (dilution factor).

Stability of the samples: Calcium is stable 10 days at 2-8°C.

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 570 nm (550-590)  
Cuvette: ..... 1 cm. light path  
Temperature: ..... 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette (Note 5):

	Blank	Standard	Sample
R 1 (mL)	1,0	1,0	1,0
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0
Standard (Note 1,4) (μL)	--	20	--
Sample (μL)	--	--	20

- Mix and incubate for 5 min. at room temperature(15-25°C)/37°C.
- Read the absorbance (A) of the samples and standard, against the Blank. The color is stable for at least 40 minutes.

### CALCULATIONS

Serum and plasma

$$\frac{(A) \text{ Sample} - (A) \text{ Blank}}{(A) \text{ Standard} - (A) \text{ Blank}} \times 10 (\text{Standard conc.}) = \text{mg/dL calcium in the sample}$$

Urine 24 h

$$\frac{(A) \text{ Sample} - (A) \text{ Blank}}{(A) \text{ Standard} - (A) \text{ Blank}} \times 10 (\text{Standard conc.}) \times \text{vol. (dL) urine/24 h} = \text{mg/24 h calcium}$$

**Conversion factor:** mg/dL x 0,25= mmol/L.

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTRON H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>1</sup>

Serum or plasma:

Adults	8,5-10,5 mg/dL	$\cong$ 2,1 - 2,6 mmol/L
Children	10 -12 mg/dL	$\cong$ 2,5 - 3,0 mmol/L
Newborns	8 -13 mg/dL	$\cong$ 2,00 - 3,25 mmol/L

Urine:

Adults	50 - 300 mg/24h	$\cong$ 1,25 - 7,50 mmol/24h
Children	80 -160 mg/24h	$\cong$ 2,00 - 4,00 mmol/24h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From *detection limit* of 0,07 mg/dL to *linearity limit* of 35 mg/dL. If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

### Precision:

Mean (mg/dL)	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	9,14	16,02	9,34	16,27
SD	0,07	0,11	0,20	0,37
CV (%)	0,74	0,68	2,16	2,27

**Sensitivity:** 1 mg/dL = 0,044 (A).

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)<sup>2</sup>: 0,981.

Regression equation: y=0,8234x + 1,5484.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

No interferences were observed with triglycerides up to 1,25 g/L<sup>1,2,3</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with calcium determination has been reported<sup>4,5</sup>.

### NOTES

- CALCIUM CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- It is recommended to use disposable material. If glassware is used the material should be scrupulously cleaned with diluted 1/2 HNO<sub>3</sub> in water and then thoroughly rinsed it with distilled water.
- Most of the detergents and water softening products used in the laboratories contains chelating agents. A defective rinsing will invalidate the procedure.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.**

### BIBLIOGRAPHY

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem Vol 10, No 8 1964; 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path Vol 45, No 3 1996; 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

### PACKAGING

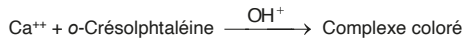
Ref:1001061 Cont. R1:1 x 150 mL, R2: 1 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL  
 Ref:1001062 R1:1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

## Détermination quantitative de calcium IVD

Conservé à 2-8°C

### PRINCIPE DE LA METHODE

La mesure du calcium est fondée sur la formation d'un complexe coloré entre le calcium de l'échantillon et l'o-crésolphtaléine, en milieu alcalin :



L'intensité de la couleur formée est directement proportionnelle à la concentration de calcium présente dans l'échantillon testé<sup>1,2,3</sup>.

### SIGNIFICATION CLINIQUE

Le calcium est le minéral le plus abondant et le plus important du corps humain ; 99 % se trouve dans les os.

Une diminution des niveaux d'albumine cause une diminution du calcium dans le sérum. De faibles niveaux de calcium peuvent être attribués à de l'hypoparathyroïdie, pseudo-hypoparathyroïdie, déficit en vitamine D, malnutrition ou mauvaise absorption

La majorité des causes d'hypercalcémie sont dues à des maladies oncologiques, intoxication par vitamine D, augmentation de la rétention rénale, ostéoporse, sarcoïdose, thyroïxose et hyperparathyroïdie<sup>1,6,7</sup>.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

### RÉACTIFS

<b>R 1</b>	Éthanolamine	500 mmol/L
Tampon	Chloroforme	15 mmol/L
	Méthanol	5700 mmol/L
<b>R 2</b>	o-Crésolphtaléine	0,62 mmol/L
	8-Hydroxyquinoléine	69 mmol/L
<b>CALCIUM CAL</b>	Étalon primaire aqueux de Calcium	10 mg/dL

### PRÉCAUTIONS

R1: H302+H312+H332-Nocif en cas d'ingestion, de contact cutané ou d'inhalation.  
H314- Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

H370-Risque avéré d'effets graves pour les organes.

CAL : EUH210- Fiche de données de sécurité disponible sur demande.

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

### PRÉPARATION

Tous les réactifs et le étalon sont prêts à l'emploi.

### CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

### Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbation (A) du blanc à 570 nm  $\geq 0,22$ .

### MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 570 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque 2,3)

### ÉCHANTILLONS

- Sérum ou plasma<sup>1</sup>: Séparé le plus tôt possible des hématies. Ne pas utiliser de l'oxalate ou EDTA comme anticoagulants parce qu'ils sont forts calcium chélateur.

- Urine<sup>1</sup>: Effectuer le prélèvement d'urine de 24 heures dans des récipients sans calcium. Avant le prélèvement, mettre 10 mL d'acide nitrique à 50 % (v/v) dans le conteneur. Consigner le volume.

Diluer l'urine 1/2 dans de l'eau distillée pour l'analyser. Mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 2 (facteur de dilution).

Stabilité de l'échantillon : Le calcium est stable 10 jours à 2-8°C.

### PROCEDURE

- Conditions de test:  
Longueur d'ondes: ..... 570 nm (550-590)  
Cuvette: ..... 1 cm d'éclairage  
Température: ..... 37°C / 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée.
- Pipeter dans une cuvette (Remarque 5):

	Blanc	Étalon	Échantillon
R 1 (mL)	1,0	1,0	1,0
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon <sup>(Note 1,4)</sup> (µL)	--	20	--
Échantillon (µL)	--	--	20

- Mélanger et incuber pendant 5 minutes à température ambiante (15-25°C)/37°C.
- Lire l'absorbation (A) du étalon contre le Blanc du réactif. La couleur est stable au moins 40 minutes.

### CALCULS

Sérum ou plasma

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 10 (\text{Conc. Étalon}) = \text{mg/dL de calcium dans l'échantillon}$$

Urine 24 h

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 10 (\text{Conc. Étalon}) \times \text{vol. (dL) urine/24 h} = \text{mg/24 h de calcium dans l'échantillon}$$

**Facteur de conversion:** mg/dL x 0,25= mmol/L.

### CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

### VALEURS DE REFERENCE<sup>1</sup>

Sérum ou plasma :

Adultes 8,5-10,5 mg /dL  $\cong$  2,1-2,6 mmol/L

Enfants 10-12 mg/dL  $\cong$  2,5-3,0 mmol/L

Nouveau-nés 8-13 mg/dL  $\cong$  2,00-3,25 mmol/L

Urine :

Adultes 50-300 mg/24 h  $\cong$  1,25-7,50 mmol/24 h

Enfants 80-160 mg/24 h  $\cong$  2,00-4,00 mmol/24 h

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

### CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

*Plage de mesure: Depuis la limite de détection de 0,07 mg/dL, jusqu'à la limite de linéarité de 35 mg/dL*

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

### Précision:

Moyenne (mg/dL)	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	9,14	16,02	9,34	16,27
SD	0,07	0,11	0,20	0,37
CV (%)	0,74	0,68	2,16	2,27

**Sensibilité analytique:** 1 mg/dL = 0,044 (A).

**Exactitude:** Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x). Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)<sup>2</sup>: 0,981.

Equation de la Coubre de régression: y=0,8234x + 1,5484.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé

### INTERFERENCES

Les triglycérides  $\leq 1,25$  g/L, n'interfèrent pas<sup>1,2,3</sup>. Il a été rapporté que certaines drogues et autres substances interfèrent avec la détermination du calcium<sup>4,5</sup>.

### REMARQUES

- CALCIUM CAL : En raison de la nature du produit, il est conseillé de le traiter avec beaucoup de soin vu qu'il peut facilement contaminated.
- Il est recommandé d'utiliser du matériel en plastique à usage unique. Si l'on utilise du matériel en verre, il faudra le laver avec de l'acide nitrique dilué dans de l'eau (1/2), rincer plusieurs fois à l'eau distillée et sécher avant emploi.
- La majorité des détergents destinés à un usage en laboratoire contiennent des agents chélateurs. Des traces de ces derniers, consécutifs à un mauvais rinçage du matériel, invalident la détermination.
- La calibration avec l'Étalon aqueux peut donner lieu à des erreurs systématiques dans les méthodes automatiques. Dans ce cas, il est recommandé d'utiliser des calibreurs sériques.
- Utiliser des embouts de pipette jetables propres pour la dispensation.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

### BIBLIOGRAPHIE

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8); 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3); 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

### PRÉSENTATION

Réf:1001061 Cont. R1:1 x 150 mL, R2: 1 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

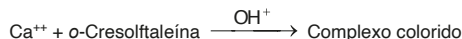
Réf:1001062 R1:1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

**Determinação quantitativa de cálcio IVD**

Armazenar a 2-8°C.

**PRINCÍPIO DO MÉTODO**

A medição do cálcio baseia-se na formação de um complexo colorido entre o cálcio e a o-cresolftaleína, em meio alcalino.


 A intensidade da cor formada é diretamente proporcional à concentração de cálcio presente na amostra analisada<sup>1,2,3</sup>.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

O cálcio é o mineral mais abundante e importante do corpo humano, 99% encontrando-se nos ossos.

 Uma diminuição dos níveis de albumina causa uma diminuição do cálcio em soro. Níveis baixos de cálcio podem atribuir-se a hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, deficiência de vitamina D, subnutrição ou má absorção. A maioria das causas de hipercalcemia são devidas a doenças oncológicas, intoxicação por vitamina D, aumento da retenção renal, osteoporose, sarcoidose, tirotoxicose e hiperparatiroidismo<sup>1,6,7</sup>.

O diagnóstico clínico deve realizar-se tendo em conta todos os dados clínicos e de laboratório.

**REAGENTES**

<b>R 1</b> Tampão	Etanolamina	500 mmol/L
	Clorofórmio	15 mmol/L
	Metanol	5700 mmol/L
<b>R 2</b> Cromogéneo	o-Cresolftaleína	0,62 mmol/L
	8-Hidroxiquinoleína	69 mmol/L
<b>CALCIUM CAL</b>	Padrão primário aquoso de Cálcio	10 mg/dL

**PRECAUÇÕES**

R1: H302+H312+H332-Nocivo por ingestão, contacto com a pele ou inalação.

H314- Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H370-Afecta os órgãos.

CAL: EUH210- Ficha de dados de segurança disponível a pedido.

Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

**PREPARAÇÃO**

Os reagentes e o padrão estão prontos para utilização.

**CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE**

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade que consta da etiqueta quando armazenados bem fechados a 2-8°C protegidos da luz e quando as contaminações são evitadas durante a sua utilização.

Não utilizar os reagentes após passar o prazo de validade.

**Sinais de deterioração dos reagentes:**

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvência nula (A) a 570 nm  $\geq$  0,22.

**EQUIPAMENTO ADICIONAL**

- Espectrómetro ou colorímetro a medir a 570 nm.
- Cuvettes equiparadas 1,0 cm passo de luz.
- Equipamento habitual de laboratório (Nota 2,3).

**AMOSTRAS**

 - Soro ou plasma<sup>1</sup>: Separado o mais depressa possível dos eritrócitos. Não utilizar oxalato ou EDTA como anticoagulantes porque eles são fortes cálcio quelante.

 - Urina<sup>1</sup>: Efetuar a recolha de urina de 24 horas em recipientes livres de cálcio. Antes da recolha, adicionar ao recipiente 10 mL de ácido nítrico a 50% (v/v). Anotar o volume.

Diluir a urina 1/2 em água destilada para a sua análise. Misturar o resultado obtido por 2 (fator de diluição).

Estabilidade da amostra: O cálcio é estável 10 dias a 2-8°C.

**PROCEDIMENTO**

- Condições dos ensaios:  
Comprimento de onda: ..... 570 nm (550-590)  
Cuvette: ..... 1 cm passo de luz  
Temperatura: ..... 37°C/ 15-25°C
- Ajustar o instrumento para zero com água destilada.
- Pipeta numa cuvette (Nota 5):

	Branco	Padrão	Amostra
R 1 (mL)	1,0	1,0	1,0
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0
Padrão (Nota 1,4) (µL)	--	20	--
Amostra (µL)	--	--	20

- Misturar e incubar 5 minutos a temperatura ambiente (15-25°C)/37°C.
- Ler a absorvência (A) do padrão e a amostra, em frente ao Branco do reagente. A cor é estável, no mínimo 40 minutos.

**CÁLCULOS**

Soro ou plasma

$$\frac{(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco}}{(A) \text{ Padrão} - (A) \text{ Branco}} \times 10 (\text{Conc. Padrão}) = \text{mg/dL de cálcio na amostra}$$

Urina 24 h

$$\frac{(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco}}{(A) \text{ Padrão} - (A) \text{ Branco}} \times 10 (\text{Conc. Padrão}) \times \text{vol. (dL) urina/24 h} = \text{mg/24 h de cálcio na amostra}$$

**Fator de conversão:** mg/dL x 0,25= mmol/L.

**CONTROLO DE QUALIDADE**

São recomendados soros de controlo para monitorizar o desempenho dos procedimentos dos ensaios: SPINROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores de controlo estiverem fora do intervalo definido, verifique o instrumento, reagentes e técnicas para detetar problemas.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e as ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

**VALORES DE REFERÊNCIA<sup>1</sup>**

Soro ou plasma:

 Adultos 8,5-10,5 mg /dL  $\cong$  2,1-2,6 mmol/L

 Crianças 10-12 mg/dL  $\cong$  2,5-3,0 mmol/L

 Recém-nascidos 8-13 mg/dL  $\cong$  2,00-3,25 mmol/L

Urina:

 Adultos 50-300 mg/24 h  $\cong$  1,25-7,50 mmol/24 h

 Crianças 80-160 mg/24 h  $\cong$  2,00-4,00 mmol/24 h

Estes valores servem apenas como referência. Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio intervalo de referência.

**CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO**
**Intervalo de medição:** Do limite de deteção de 0,07 mg/dL até ao limite de linearidade de 35 mg/dL.

Se os resultados obtidos forem superiores ao limite de linearidade, diluir a amostra 1/2 com NaCl 9 g/L e multiplicar o resultado por 2.

**Precisão:**

Média (mg/dL)	Intra-ensaios (n= 20)		Inter-ensaios (n= 20)	
	9,14	16,02	9,34	16,27
SD	0,07	0,11	0,20	0,37
CV (%)	0,74	0,68	2,16	2,27

**Sensibilidade analítica:** 1 mg/dL = 0,044 (A).

**Exatidão:** Os resultados obtidos utilizando reagentes SPINREACT (y) não demonstraram diferenças sistemáticas quando comparados com outros reagentes comerciais (x).

Os resultados obtidos utilizando 50 amostras foram os seguintes:

 Coeficiente de correlação (r)<sup>2</sup>: 0,981.

Equação de regressão: y= 0,8234x + 1,5484.

Os resultados das características de desempenho dependem do analisador utilizado.

**INTERFERÊNCIAS**

 Triglicéridos  $\leq$  1,25 g/L, não interferem<sup>1</sup>. Foram descritos vários medicamentos e outras substâncias que interferem na determinação do cálcio<sup>4,5</sup>.

**NOTAS**

- CALCIUM CAL: Devido à natureza do produto, é aconselhável tratá-lo com o máximo cuidado, uma vez que se pode contaminar com facilidade.
- Recomenda-se a utilização de material plástico descartável. Se se utilizar material de vidro, deverá lavar-se com ácido nítrico diluído com água (1/2), enxaguar várias vezes com água destilada e secar antes da sua utilização.
- A maioria dos detergentes destinados à utilização do laboratório contém agentes quelantes. Vestígios dos mesmos, como consequência de uma má lavagem do material, invalida a determinação.
- A calibração com o Padrão aquoso pode dar lugar a erros sistemáticos em métodos automáticos. Neste caso, recomenda-se utilizar calibradores séricos.
- Utilizar pontas de pipetas descartáveis limpas para sua dispensa.
- O SPINREACT tem instruções para vários analisadores automáticos.**

**BIBLIOGRAFIA**

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem 1964; 10 (8); 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path 1996; 45 (3); 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

**APRESENTAÇÃO**

Ref:1001061

Cont.

R1:1 x 150 mL, R2: 1 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

Ref:1001062

R1:1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 5 mL