

CÁLCIO ARSENAZO III

REF **K305**

INSTRUÇÕES DE USO

USO VETERINÁRIO

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ACESSORIA AO CLIENTE:

SAC: (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

FINALIDADE

Determinação quantitativa do Cálcio em amostra biológica de soro, plasma e urina através de reação colorimétrica. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Colorimétrica de Ponto Final - Arsenazo III

O cálcio reage com o arsenazo III em meio ácido formando o complexo de coloração azul, cuja intensidade é proporcional à concentração de cálcio na amostra. A absorvância do produto da reação deve ser medida nos comprimentos de onda entre 600 e 680 nm.

REAGENTES

Número 1: Arsenazo - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém:

Arsenazo III 0,2 mmol/L, 8-Hidroxiquinoleína < 20 mmol/L, tamponantes, surfactantes e conservante.

Número 2: Padrão - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Carbonato de Cálcio 10 mg/dL, estabilizante e conservante.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente N°1	Reagente N°2
K305-2-VET	2 x 50 mL	3 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Aparelhos automáticos e semi-automáticos de bioquímica, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, banho-maria a 37 °C, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. Esses itens são encontrados no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas até 30 °C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

2- A validade dos reagentes é impressa nos rótulos dos mesmos. Entretanto, após abertos, os reagentes podem sofrer contaminações durante o manuseio e ter sua estabilidade diminuída. Importante observar alterações (mudança de cor, formação de precipitados) que podem indicar contaminação.

3- Os reagentes N°1 e N°2 contêm Azida Sódica que pode ser irritante para pele e mucosas. Manusear com cuidado.

4- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.

5- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.

6- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

7- É de extrema importância a limpeza rigorosa de todo o material (pipetas, ponteiras, tubos de ensaio, cubetas, etc) para obtenção de resultados exatos. Utilizar solução sulfocrômica ou solução aquosa de HCl 50% ou detergente não iônico. Lavar o material em água corrente e enxaguar com água destilada ou deionizada. Secar o material em estufa protegido do contato direto com a parte de metal da estufa (colocar o material em cubas de vidro).

8- Não permitir o contato da amostra com anticoagulante como o EDTA que é quelante de Cálcio, citrato que complexa o Ca²⁺, o oxalato e o fluoreto que precipitam o Cálcio.

9- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

10- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha com Dados de Segurança) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

11- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

12- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro ou Plasma (Heparina): Livres de hemólise. Não utilizar Oxalato ou EDTA como anticoagulante, pois interferem na determinação do cálcio. Separar o soro ou o plasma até uma hora após a coleta, devido ao aumento da permeabilidade das hemácias ao Cálcio. O analito é estável no soro e plasma por 7 dias entre 2 e 8 °C e 2 meses a -20 °C.

Urina: Efetuar a coleta da urina com 24 horas em recipiente livre de cálcio. Antes da coleta adicionar ao recipiente 10 mL de Ácido Nítrico 50% v/v. Quando a amostra de 24 horas não for acidificada durante a coleta, adicionar 20 mL de HCl 6M, homogeneizar, esperar 60 minutos e tomar a alíquota para o ensaio. O analito é estável na urina por 4 dias entre 2 e 8 °C e 30 dias a -20 °C¹³.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade de calibração do kit Cálcio Arsenazo III instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 28 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

Selecionar o comprimento de onda de 600 nm a 680 nm.

Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), P (Padrão) e A (Amostra) e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Reagente N° 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Reagente N° 2	---	10 µL	---
Amostra	---	---	10 µL

Homogeneizar e incubar por 2 minutos a 37 °C.

Ler a absorvância do Padrão e da Amostra de 600nm a 680nm, acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 1 hora.

CÁLCULOS

Cálcio Sérico:

Cálcio (mg/dL) = $\frac{\text{Absorvância do Teste}}{\text{Absorvância do Padrão}} \times 10$

Como a reação segue a lei de Lambert-Beer, o Fator de Calibração pode ser usado.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{10}{\text{Absorvância do Padrão}}$$

Cálcio (mg/dL) = Absorvância do Teste x Fator

Cálcio Urinário:

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

Cálcio Ionizado (Cal):

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

Ca = Cálcio Sérico (mg/dL)

P = Proteínas Totais (g/dL)

A = Albumina (g/dL)

INTERFERENTES

Não utilizar amostras hemolisadas.

Amostras lipêmicas e ictericas podem interferir nas dosagens. Oxalato ou EDTA como anticoagulante, pois interferem na determinação do cálcio.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

O padrão do kit é rastreável ao material de referência SRM 915B do NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência foram determinados em amostras de soro de populações saudáveis de cães, gatos, bovinos e equinos, machos e fêmeas, adultos e sem distinção de raça.

Espécie	Valor de Referência
Cães	8,23 - 13,40 mg/dL
Gatos	8,04 - 12,95 mg/dL
Bovinos	7,72 - 10,81 mg/dL
Equinos	8,93 - 12,57 mg/dL

Estes valores devem ser usados como orientação e cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio valor de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional Médico Veterinário, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO

EXATIDÃO

Comparação de Métodos

O kit Cálcio Arsenazo III foi comparado com outro método para dosagem de cálcio, comercialmente disponível. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi $Y = 1,0126X - 0,5691$, com coeficiente de correlação linear igual a 0,9934. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	6,28	11,89	9,33
Desvio Padrão (mg/dL)	0,19	0,10	0,07
Coefficiente de Variação (%)	3,04	0,88	0,76

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	6,38	11,85	9,21
Desvio Padrão (mg/dL)	0,15	0,05	0,10
Coefficiente de Variação (%)	2,34	0,40	1,11

SENSIBILIDADE

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta de Cálcio. A média encontrada, que indica o limite de detecção, foi 0,022 mg/dL com desvio padrão de 0,018 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de quantificação do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 0,074 mg/dL.

LINEARIDADE

A reação é linear até concentração de 20 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra 1:2 ou 1:4 com água deionizada ou destilada e repetir a determinação. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O cálcio é o mineral mais abundante do organismo e atua em funções importantes dos ossos assim como eventos intracelulares, musculares e neurológicos. A absorção do cálcio para o organismo ocorre no intestino (íleo), mediado pela vitamina D e indiretamente pelo hormônio paratireoideano (PTH). Nos equinos a absorção intestinal de cálcio independe da vitamina D, uma vez que esta espécie não possui a enzima hidroxilase, essencial neste processo. A absorção de cálcio é afetada diretamente por corticosteroides, pela acidez do estômago e por agentes quelantes de cálcio (como oxalatos e fosfatos). O cálcio é filtrado através do glomérulo e aproximadamente 60% do cálcio é reabsorvido e portanto lesões neste tecido afetam significativamente este processo. Nos equinos, o excesso de cálcio é eliminado na urina.

A hipercalemia não é comum nos animais, mas entre as espécies domésticas o cão e o equino são os mais afetados. Os principais mecanismos que levam à hipercalemia incluem o aumento da absorção intestinal, osteólise, redução da excreção renal e aumento da ligação do cálcio à proteínas.

A hipocalcemia resulta no aumento da excitabilidade muscular e renal e pode ocorrer devido à: redução da ligação do Cálcio a proteínas, redução da absorção gastrointestinal, perda excessiva do cálcio pelos rins ou desbalanço hormonal (comum em bovinos em casos de febre do leite).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Connerty HV, Briggs AR. Amer J Clin Pathol. 1.966, 45 - 290.
- Gitelman HJ. Anal Biochem, 1.967, 18 - 521.
- Henry RJ., Clinical Chemistry Principles and Technics.
- Jansen JW, Helbing AR Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:197-201.
- Leary NO, Pembroke A, Duggan PF. Clin Chem 1992;38: 904 - 8.
- Martin EW. Harzards of Medication, 1971.
- Morgan BR, Artiss JD, Zak B. Clin Chem 1993;39:1608-12.
- Pottgen P, Davis ER. Clin Chem 1976;22:1752.
- Stem J, Lewis VHP. Clin. Chim. Acta, 1957, 2 - 576.
- Tietz NW. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER eds, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1994.
- Todd, Sanford, Davisohn. Diagnósticos Clínicos, 1983.
- Tonks DB. Clin Chem. 1.963, 9 - 217.
- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31
- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
- EClinPahth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** 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 adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 031 5454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro: Produto isento de registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Responsável Técnico: Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611)

Revisão: Junho/2025

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÂMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERILIZADO
	CUIDADO		PERIGO

CALCIO ARSENAZO IIIREF **K305****INSTRUCCIONES DE USO****USO VETERINARIO**

PARA OBTENER LAS INSTRUCCIONES DE USO EN FORMATO IMPRESO, SIN COSTO ADICIONAL, CONTACTE CON EL SERVICIO DE ASESORAMIENTO AL CLIENTE:

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

FINALIDAD

Determinación cuantitativa del Calcio en muestra biológicas del suero, plasma y orina a través de reacción colorimétrica. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Colorimétrica de Punto Final - Arsenazo III

El calcio reacciona con el arsenazo III en medio ácido formando el complejo de coloración azul, cuya intensidad es proporcional a la concentración de calcio en la muestra. La absorbancia del producto de la reacción debe ser medida en las larguras de onda entre 600 y 680 nm.

REACTIVOS

Número 1: Arsenazo - Almacenar entre 2 e 8 °C. Contiene: Arsenazo III 0,2 mmol/L, 8-Hidroxiquinoleína < 20 mmol/L, tamponantes, surfactantes y conservante.

Número 2: Patrón - Almacenar entre 2 e 8 °C. Contiene: Carbonato de Calcio 10 mg/dL, estabilizante y conservante.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo Nº 1	Reactivo Nº 2
K305-2-VET	2 x 50 mL	3 mL

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Aparatos automáticos y semi automáticos de bioquímica, reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, baño maría a 37 °C, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Estos artículos se encuentran en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8 °C. El transporte a temperaturas hasta 30 °C no deberá exceder 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.

2- La validez de los reactivos está impresa en los rótulos de los mismos. Sin embargo, después de abiertos, los reactivos pueden sufrir contaminaciones durante el manoseo y tener su estabilidad disminuida. Importante observar alteraciones (cambios de color, formación de precipitados) que pueden indicar contaminación.

3- Los reactivos N°1 e N°2 contiene Azida Sódica que puede ser irritante para la piel y mucosas. Manosear con cuidado.

4- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.

5- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente exenta de agentes contaminantes.

6- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos, agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.

7- Es de extrema importancia la limpieza rigurosa de todo material (pipetas, punteros, tubos de ensayo, cubetas, etc) para obtención de resultados exactos. Utilizar solución sulfocrómica o solución acuosa de HCl 50% o detergente no iónico. Lavar el material en agua corriente y enjuagar con agua destilada o deionizada. Secar el material en estufa protegido del contacto directo con la parte de metal de la estufa (colocar el material en cubos de vidrio).

8- No permitir el contacto de la muestra con anticoagulante como el EDTA que es quelante de Calcio, citrato que compleja el Ca²⁺, el oxalato y el fluoruro que precipitan el Calcio;

9- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

10- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

11- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

12- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero o Plasma (Heparina): Libres de hemólisis. No utilizar Oxalato o EDTA como anticoagulante, pues interfieren en la determinación del calcio. Separar el suero o el plasma dentro de una hora después de la recogida, debido al aumento de permeabilidad de las células rojas de la sangre a calcio. El analito es estable en suero y plasma durante 7 días a 2 a 8 °C y 2 meses a -20 °C.

Orina: Efectuar la colecta de la orina con 24 horas en recipiente libre de calcio. Antes de la colecta adicionar al recipiente 10 mL de Acido Nítrico 50% v/v. Cuando la muestra de 24 horas no es acidificada durante la colecta, adicionar 20 mL de HCl 6M, homogenizar, esperar 60 minutos y tomar la alícuota para el ensayo. El analito es estable en orina durante 4 días a 2 a 8 °C y 30 días a -20 °C¹³.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

La estabilidad de calibración del kit de Calcio Arsenazo III instalado en equipos refrigerados es de al menos 28 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control.

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

Seleccionar la largura de onda de 600 nm a 680 nm.

Marcar 3 tubos de ensayo: B (Blanco), P (Patrón) y M (Muestra) y proceder como sigue:

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo Nº 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Reactivo Nº 2	---	10 µL	---
Muestra	---	---	10 µL

Homogenizar e incubar por 2 minutos a 37 °C.

Leer la absorbancia del Patrón y de la Muestra de 600nm a 680nm, acertando el cero con el Blanco. El color es estable por 1 hora.

CÁLCULOS

Calcio Sérico:

$$\text{Calcio (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbancia del Test}}{\text{Absorbancia del Patrón}} \times 10$$

Como la reacción sigue la ley de Lambert Beer, el Factor de Calibración puede ser usado.

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{10}{\text{Absorbancia del Patrón}}$$

$$\text{Calcio (mg/dL)} = \text{Absorbancia del Test} \times \text{Factor}$$

Calcio Orinário:

$$\text{Calcio orinário} = \frac{\text{Calcio Orinário (mg/dL)} \times \text{Volumen (mL)}}{100} \text{ (mg/24 horas)}$$

Calcio Ionizado (Cal):

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

Ca = Calcio Sérico (mg/dL)

P = Proteínas Totais (g/dL)

A = Albumina (g/dL)

INTERFERENTES

No utilice muestras hemolizadas.

Las muestras lipémicas e ictericas pueden interferir con las dosis. Oxalato o EDTA como anticoagulante, ya que interfieren con determinación de calcio

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de control, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRAZABILIDAD

El patrón del kit es trazable al material de referencia SRM 915B del NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia se determinaron en muestras de suero de poblaciones sanas de perros, gatos, bovinos y equinos, machos y hembras, adultos sin distinción de raza.

Espécie	Valor de Referencia
Perros	8,23 - 13,40 mg/dL
Gatos	8,04 - 12,95 mg/dL
Bovinos	7,72 - 10,81 mg/dL
Caballos	8,93 - 12,57 mg/dL

Estos valores deben ser utilizados como guía y cada laboratorio debe establecer su propio valor de referencia, de acuerdo a la población atendida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico veterinario, y no son el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

EXACTITUD

Comparación de Métodos

El kit Calcio Arsenazo III fue comparado con otro método para dosificación de calcio comercialmente disponible. Fueron realizadas 42 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue $Y = 1,0126X - 0,5691$, con coeficiente de correlación lineal igual a 0,9934. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Repetibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración (mg/dL)	6,28	11,89	9,33
Desvío Patrón (mg/dL)	0,19	0,10	0,07
Coefficiente de Variación (%)	3,04	0,88	0,76

Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Reproductibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración (mg/dL)	6,38	11,85	9,21
Desvío Patrón (mg/dL)	0,15	0,05	0,10
Coefficiente de Variación (%)	2,34	0,40	1,11

SENSIBILIDAD

La sensibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones de una muestra exenta de Calcio. El promedio encontrado, que indica el límite de detección, fue 0,022 mg/dL con desvío patrón de 0,018 mg/dL. La sensibilidad, que indica el límite de cuantificación del método, corresponde el promedio más 3 veces el desvío patrón, y es igual a 0,074 mg/dL.

LINEARIDAD

La reacción es lineal hasta concentración de 20 mg/dL. Para valores mayores, diluir la muestra 1:2 o 1:4 con agua deionizada o destilada y repetir la determinación. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

El calcio es el mineral más abundante en el cuerpo y desempeña un papel importante en las funciones óseas, así como en eventos intracelulares, musculares y neurológicos. La absorción de calcio en el organismo se produce en el intestino (íleon), mediada por la vitamina D e indirectamente por la hormona paratiroidea (PTH). En los equinos, la absorción intestinal de calcio es independiente de la vitamina D, ya que esta especie no posee la enzima hidroxilasa, indispensable en este proceso. La absorción de calcio se ve directamente afectada por los corticosteroides, la acidez estomacal y los agentes quelantes del calcio (como los oxalatos y los fosfatos). El calcio se filtra a través del glomérulo y aproximadamente el 60% del calcio se reabsorbe, por lo que las lesiones en este tejido afectan significativamente este proceso. En los caballos, el exceso de calcio se elimina por la orina. La hipercalcemia no es común en los animales, pero entre las especies domésticas, los perros y los caballos son los más afectados. Los principales mecanismos que conducen a la hipercalcemia incluyen el aumento de la absorción intestinal, la osteólisis, la reducción de la excreción renal y el aumento de la unión del calcio a las proteínas.

La hipocalcemia da como resultado un aumento de la excitabilidad muscular y renal y puede ocurrir debido a: reducción de la unión del calcio a las proteínas, reducción de la absorción gastrointestinal, pérdida excesiva de calcio por los riñones o desequilibrio hormonal (común en el ganado en casos de fiebre de la leche).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Connerty HV, Brigs AR. Amer J Clin Pathol. 1.966, 45 - 290.
- Gitellman HJ. Anal Biochem, 1.967, 18 - 521.
- Henry RJ., Clinical Chemistry Principles and Technics.
- Jansen JW, Helbing AR Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:197-201.
- Leary NO, Pembroke A, Duggan PF. Clin Chem 1992;38: 904 - 8.
- Martin EW. Harzards of Medication, 1971.
- Morgan BR, Artiss JD, Zak B. Clin Chem 1993;39:1608-12.
- Pottgen P, Davis ER. Clin Chem 1976;22:1752.
- Stem J, Lewis VHP. Clin. Chim. Acta, 1957, 2 - 576.
- Tietz NW. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER eds, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1994.
- Todd, Sanford, Davisohn. Diagnósticos Clínicos, 1983.
- Tonks DB. Ciin Chem. 1.963, 9 - 217.
- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31
- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
- EClinPahth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentación, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca

CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil

Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br

CNPJ: 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

ATENCIÓN AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel.: 0800 031 5454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro: Producto exento de registro ante el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento.

Responsable Técnico: Dra. Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611)

Revisión: Junio/2025

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACION		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

CALCIUM ARSENAZO IIIREF **K305****INSTRUCTIONS FOR USE****VETERINARY USE**

TO OBTAIN THE INSTRUCTIONS FOR USE IN PRINTED FORMAT, AT NO ADDITIONAL COST, CONTACT CUSTOMER ADVISORY SERVICE:

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

FUNCTION

Quantitative determination of calcium in biological samples of serum, plasma and urine by color reaction. Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION**Methodology:** Colorimetric Endpoint - Arsenazo III

The calcium reacts with arsenazo III in acid environment forming the blue-colored complex, whose intensity is proportional to the calcium concentration in the sample. The absorbance of the reaction product is measured in wavelengths between 600 and 680 nm.

REAGENTS

Number 1: Arsenazo - Store between 2 and 8 °C. Contains: Arsenazo III 0.2 mmol/L, 8-Hydroxyquinoline < 20 mmol/L, buffers, surfactants and preservative.

Number 2: Standard - Store between 2 and 8 °C. Contains: Calcium Carbonate 10 mg/dL, stabilizer and preservative.

PRESENTATION

Presentation	Reagent N° 1	Reagent N° 2
K305-2-VET	2 x 50 mL	3 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Automated instruments and semi-automatic biochemistry, clock or stopwatch, pipettes, test tubes, a water bath at 37 °C, Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin. These items are found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 to 8 °C. The transport at temperatures up to 30 °C should not exceed 5 days. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For *in vitro* diagnostic use only.

2- The validity of the reactants is printed on the labels of same. However, once opened, the reagent can suffer from contamination during handling and have stability decreased. Important to note changes (Color change, precipitate formation) that may indicate contamination.

3- Reagents N° 1 and N°2 contains Sodium Azide which can be irritating to skin and mucous membranes. Handle with care.

4- To follow strictly the methodology proposed for obtaining accurate results.

5- The water used in material cleaning must be recent and free from contaminants.

6- Columns deionizer saturated releases alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents, which can significantly alter the results.

7- It is extremely important the thorough cleaning of all material (pipettes, tips, test tubes, cuvettes, etc.) to obtain accurate results. Using solution sulphochromic or aqueous solutions of HCl 50% or detergent nonionic. Rinse the material in running water and rinse with distilled/deionized water. Dry the material under heater protected from direct contact with the metal part of (put the material in glass vats).

8- Do not allow contact of the sample anticoagulant such as EDTA that is a chelat calcium, citrate that complex Ca²⁺, oxalate and fluoride that precipitate Calcium.

9- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

10- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

11- Do not use the product in case of damaged packaging.

12- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma (Heparin): Free of hemolysis. Do not use Oxalate or EDTA as an anticoagulant by interfering the determination of calcium. Separate serum or plasma within one hour after collection, due to increased permeability of red blood cells to calcium. The analyte is stable in serum or plasma for 7 days at 2 to 8 °C and 2 months at -20 °C.

Urine: Make the urine collection within 24 hours in a recipient free of calcium. Prior to the collection add into container 10 mL of Nitric Acid 50% v/v. When the sample of 24 hours is not acidified during collection, add 20 mL of HCl 6M, homogenize, wait 60 minutes and take the aliquot for the test. The analyte is stable in urine for 4 days at 2 to 8 °C and 30 days at -20 °C¹³.

PROCESS DESCRIPTION

The calibration stability of the Calcium Arsenazo III kit installed on refrigerated equipment is at least 28 days. This stability may vary depending on the conditions of the test, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control serum.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits.

Select the wavelength from 600 nm to 680 nm.

Mark 3 test tubes: B (Blank), P (Standard) and A (Sample) and proceed as follows:

	Blank	Standard	Sample
Reagent N° 1	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
Reagent N° 2	---	10 µL	---
Sample	---	---	10 µL

Homogenize and incubate for 2 minutes at 37 °C.

Read the absorbance of Standard and Sample at 600nm to 680nm, matching the zero with Blank. The color is stable for 1 hour.

CALCULATIONS**Serum Calcium:**

$$\text{Calcium (mg/dL)} = \frac{\text{Test Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times 10$$

As the reaction follows the Beer-Lambert law, the Calibration Factor can be used.

$$\text{Calibration Factor} = \frac{10}{\text{Standard Absorbance}}$$

$$\text{Calcium (mg/dL)} = \text{Absorbance Test} \times \text{Factor}$$

Urinary Calcium:

$$\text{Urinary Calcium (mg/24h)} = \frac{\text{Urinary Calcium (mg/dL)} \times \text{Volume (mL)}}{100}$$

Ionized Calcium (Cal):

$$\text{Cal (mg/dL)} = \frac{6 \times \text{Ca} - [(0.19 \times \text{P}) + \text{A}]}{(0.19 \times \text{P}) + \text{A} + 6}$$

Ca = Calcium Serum (mg/dL)

P = Total Proteins (g/dL)

A = Albumin (g/dL)

INTERFERENTS

Do not use hemolyzed samples.

Lipemic and icteric samples may interfere with dosages. Oxalate or EDTA as an anticoagulant, as they interfere with calcium determination.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit's standard is traceable to the reference material NIST (National Institute of Standards and Technology) SRM 915B.

REFERENCE VALUES

The reference values were determined in serum samples of healthy populations of dogs, cats, cattle and horses, males and females, adults without distinction of race.

Species	Reference Value
Dogs	8.23 - 13.40 mg/dL
Cats	8.04 - 12.95 mg/dL
Cattle	7.72 - 10.81 mg/dL
Horses	8.93 - 12.57 mg/dL

These values should be used as a guideline and each laboratory should establish its own reference value, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the veterinary medical professional, and are not the only criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE

ACCURACY

Comparison of Methods

The Calcium Arsenazo III kit was compared to other method for calcium dosage available in the market. 42 analysis were performed and the results were analyzed. The obtained linear equation was $Y = 1.0126X - 0.5691$, with linear correlation coefficient equal to 0.9934. With these results we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

PRECISION

Repeatability

The repeatability was calculated from 40 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Repeatability	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration (mg/dL)	6.28	11.89	9.33
Standard Deviation (mg/dL)	0.19	0.10	0.07
Variation Coefficient (%)	3.04	0.88	0.76

Reproducibility

The reproducibility was calculated from 40 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Reproducibility	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration (mg/dL)	6.38	11.85	9.21
Standard Deviation (mg/dL)	0.15	0.05	0.10
Variation Coefficient (%)	2.34	0.40	1.11

SENSITIVITY

The sensitivity was calculated from 40 determinations a sample free of Calcium. The average found, which indicates the detection limit of the method, was 0.022 mg/dL with a standard deviation of 0.018 mg/dL. The sensitivity, which indicates the quantification limit of the method, corresponds the average plus 3 times the standard deviation and is equal to 0.074 mg/dL.

LINEARITY

The reaction is linear up to a concentration of 20 mg/dL. For higher values dilute the sample 1:2 or 1:4 with deionized or distilled water and repeat the determination. Multiply the result by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Calcium is the most abundant mineral in the body and plays a role in important bone functions as well as intracellular, muscular and neurological events. Calcium absorption into the body occurs in the intestine (ileum), mediated by vitamin D and indirectly by parathyroid hormone (PTH). In horses, intestinal calcium absorption is independent of vitamin D, since this species does not have the hydroxylase enzyme, essential in this process. Calcium absorption is directly affected by corticosteroids, stomach acidity, and calcium chelating agents (such as oxalates and phosphates). Calcium is filtered through the glomerulus and approximately 60% of the calcium is reabsorbed and therefore lesions in this tissue significantly affect this process. In horses, excess calcium is eliminated in the urine.

Hypercalcemia is not common in animals, but among domestic species, dogs and horses are the most affected. The main mechanisms leading to hypercalcemia include increased intestinal absorption, osteolysis, reduced renal excretion, and increased binding of calcium to proteins.

Hypocalcemia results in increased muscle and renal excitability and can occur due to: reduced calcium binding to proteins, reduced gastrointestinal absorption, excessive loss of calcium by the kidneys or hormonal imbalance (common in cattle in cases of milk fever).

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Connerty HV, Brigs AR. Amer J Clin Pathol. 1.966, 45 - 290.
- Gitellman HJ. Anal Biochem, 1.967, 18 - 521.
- Henry R.J., Clinical Chemistry Principles and Technics.
- Jansen JW, Helbing AR Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:197-201.
- Leary NO, Pembroke A, Duggan PF. Clin Chem 1992;38: 904 - 8.
- Martin EW. Harzards of Medication, 1971.
- Morgan BR, Artiss JD, Zak B. Clin Chem 1993;39:1608-12.
- Pottgen P, Davis ER. Clin Chem 1976;22:1752.
- Stem J, Lewis VHP. Clin. Chim. Acta, 1957, 2 - 576.
- Tietz NW. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER eds, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1994.
- Todd, Sanford, Davisohn. Diagnósticos Clínicos, 1983.
- Tonks DB. Clin Chem. 1.963, 9 - 217.
- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31
- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
- EClinPahth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under the appropriate conditions.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Registration Number: Product exempt from registration with the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply.

Technical Responsible: Dr. Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611)

Review: June/2025

UNIVERSAL SYMBOLLOGY



CATALOG NUMBER



LOT NUMBER



MANUFACTURING DATE



VALIDITY DATE
(last day of the month)



TEMPERATURE LIMIT
(store)



CONTENT IS SUFFICIENT
FOR <n> TEST



SEE INSTRUCTIONS
FOR USE



IN VITRO DIAGNOSTIC
PRODUCT



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



DO NOT REUSE



CAUTION



MADE BY



CONTROL



POSITIVE CONTROL



NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



FLAMMABLE



CORROSIVE



TOXIC



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED



PRODUCT
STERILIZED



DANGER