

CÁLCIO ARSENAZO III

REF K051

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Determinação quantitativa do Cálcio em amostra de soro, plasma e urina através de reação colorimétrica. Aplicação manual e automática.

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 absorbância do produto da reação deve ser medida nos comprimentos de onda entre 600 e 680 nm.

REAGENTES

Reagente Nº1: Arsenazo - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Arsenazo III 0,2 mmol/L, 8-Hidroquinoleína < 20 mmol/L, tamponantes, surfactantes e conservante.

Reagente Nº2: Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Carbonato de Cálcio 10 mg/dL, estabilizante e conservante.

APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente Nº1	Reagente Nº2
1	50 mL	3 mL
2	2 x 50 mL	3 mL
3	5 x 20 mL	3 mL
4	5 x 40 mL	3 mL
5	10 x 40 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 a 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

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 Nº 1 e Nº 2 contém 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 Ca⁺², 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 FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) 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 Nº 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Reagente Nº 2	---	10 µL	---
Amostra	---	---	10 µL

Homogeneizar e incubar por 2 minutos a 37°C.

Ler a absorbância 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) = $\frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 10$

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

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

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

Cálcio Urinário:

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

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)

LIMITAÇÕES DO PROCESSO:

Não utilizar amostras hemolisadas.

Amostras lipêmicas e ictericas podem interferir nas dosagens. Proceder à dosagem como a seguir:

1 - Dosar a amostra normalmente seguindo a técnica descrita.

Anotar as leituras.

2 - Adicionar 0,02 mL de anticoagulante EDTA Bioclin ao Branco e teste. Proceder a nova leitura acertando o zero com o branco.

3 - Expressar o resultado multiplicando a diferença entre as duas leituras pelo Fator de Calibração.

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 em mg/dL, para o presente método foram obtidos através da determinação de Cálcio em populações sadias do sexo masculino e feminino.



Cálcio (Soro ou Plasma)	
Cordão Umbilical	8,2 - 11,2 mg/dL
Prematuros	6,2 - 11,0 mg/dL
0 - 10 dias	7,6 - 10,4 mg/dL
Lactentes	9,0 - 11,0 mg/dL
2 - 12 anos	8,8 - 10,8 mg/dL
Adultos	8,8 - 11,0 mg/dL
Calcio Iônico	
1 - 18 anos	4,80 - 5,52 mg/dL
Adultos	4,6 - 5,4 mg/dL
Cálcio (Urina)	
Adultos	Até 180 mg/24h (Com dieta res- trita de cálcio: 500 mg/24h)
	Até 280 mg/24h (Sem dieta restrita de cálcio)

Valores críticos

Cálcio (soro ou plasma): menor que 6,0 mg/dL e maior que 14,0 mg/dL.

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI), multiplicar por 0,25. Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO
CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA
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:

	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
Coeficiente 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:

	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
Coeficiente 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 foi 0,022 mg/dL com desvio padrão de 0,018 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção 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 exerce importante função na composição do esqueleto e em reações essenciais como na coagulação sangüínea, na manutenção da integridade e permeabilidade das membranas celulares, na estimulação dos músculos esqueléticos e cardíacos, na condução neuromuscular. A hipercalcemia pode ser observada no hiperparatireoidismo, tumores malignos, doença de Paget (osteíte deformante), hipervitaminose D, nos casos de imobilização por fraturas. Níveis séricos diminuídos de Cálcio podem ser observados no hipoparatiroidismo, insuficiência renal, deficiência de vitamina D (raquitismo), pancreatite aguda, transfusões maciças de sangue.

- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**
1. CONNERTY, H. V.; BRIGS, A. R., Amer J. Clin. Pathol., 1.966, 45 - 290.
 2. GITELLMAN, H. J., Anal. Biochem, 1.967, 18 - 521.
 3. HENRY, R. J., Clinical Chemistry Principles and Technics.
 4. JANSEN JW, Helbing AR Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:197-201.
 5. LEARY NO, Pembroke A, Duggan PF. Clin Chem 1992;38: 904 - 8.
 6. MARTIN, E. W., Harzards of Medication, 1971.
 7. MORGAN BR, Artiss JD, Zak B. Clin Chem 1993;39:1608-12.
 8. POTTGEN P, Davis ER. Clin Chem 1976;22:1752.
 9. STEM, J., LEWIS V. H. P., Clin. Chim. Acta, 1957, 2 - 576.
 10. TIETZ,N.W. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER eds, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1994.
 11. TODD; SANFORD; DAVIDSOHN, Diagnósticos Clínicos, 1983.
 12. TONKS, D. B., Clin. Chem., 1.963, 9 - 217.
 13. 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
 14. 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

EC

REP

OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

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

Número de registro do kit de Cálcio Arsenazo III na ANVISA:10269360126

Revisão: Fevereiro/2020

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

REF

NÚMERO DE CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DO LOTE



DATA DE FABRICAÇÃO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

IVD

PRODUTO PARA
DIAGNOSTICO IN VITRO

EC

REP

REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



FABRICADO POR

CONTROL

CONTROLE

CONTROL +

CONTROLE POSITIVO

CONTROL -

CONTROLE NEGATIVO



RISCO BIOLÓGICO



INFLÂMAVEL



CORROSIVO



TÓXICO

CE

MARCA CE



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA

CALCIO ARSENAZO III

REF K051

INSTRUCCIONES DE USO



FINALIDAD

Determinación cuantitativa del Calcio en muestra del suero, plasma y orina a través de reacción colorimétrica. Aplicación manual y automática.

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

Reactivo Nº 1: Arsenazo - Almacenar entre 2 e 8°C. Contiene: Arsenazo III 0,2 mmol/L, 8-Hidroxiquinoleína < 20 mmol/L, tamponantes, surfactantes y conservante.
Reactivo Nº 2: Patrón - Almacenar entre 2 e 8°C. Contiene: Carbonato de Calcio 10 mg/dL,estabilizante y conservante.

PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo Nº1	Reactivo Nº2
1	50 mL	3 mL
2	2 x 50 mL	3 mL
3	5 x 20 mL	3 mL
4	5 x 40 mL	3 mL
5	10 x 40 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* profesional.**
- 2- La validad 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 Nº1 e Nº2 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 Ca⁺², 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 FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) 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:
Calcio (mg/dL) = $\frac{\text{Absorbancia del Test}}{\text{Absorbancia del Patrón}}$ x 10

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

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

Calcio (mg/dL) = Absorbancia del Test x Factor

Calcio Orinário:

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

Calcio Ionizado (Cal):

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

Ca = Calcio sérico (mg/dL)

P = Proteínas totais (g/dL)

A = Albumina (g/dL)

LIMITACIONES DEL PROCESO

- No utilizar muestras hemolizadas.
Muestras lipémicas e ictericas pueden interferir en las dosificaciones. Proceder la dosificación como sigue:
- 1 - Dosificar la muestra normalmente siguiendo la técnica descrita. Anotar las lecturas.
 - 2 - Adicionar 0,02 mL de anticoagulante EDTA Bioclin al Blanco y test. Proceder a nueva lectura acertando el cero con el blanco.
 - 3 - Expresar el resultado multiplicando la diferencia entre las dos lecturas por el Factor de Calibración.

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 en mg/dL, para el presente método fueron obtenidos a través de la determinación de Calcio en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino.

Calcio (Suero o Plasma)	
Cordón Umbilical	8,2 - 11,2 mg/dL
Prematuro	6,2 - 11,0 mg/dL
0 - 10 días	7,6 - 10,4 mg/dL
Infantes	9,0 - 11,0 mg/dL
2 - 12 años	8,8 - 10,8 mg/dL
Adultos	8,8 - 11,0 mg/dL
Iones de Calcio	
1 - 18 años	4,80 - 5,52 mg/dL
Adultos	4,6 - 5,4 mg/dL
Calcio (Orina)	
Adultos	Hasta 180 mg/24h (Dieta restringida de calcio: 500 mg/24h)
	Hasta 280 mg/24h (Sin dieta restringida de calcio)

Valores críticos

Calcio (suero o plasma): menor que 6,0 mg/dL y mayor que 14,0 mg/dL.

Para convertir los valores de mg/dL en mmol/L (SI), multiplicar por 0,25. Estos valores deben ser usados como orientación, cada laboratorio deberá crear su rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO
CONTROL DE CALIDAD

Exactitude
COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA
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 linear obtenida fue Y = 1,0126X - 0,5691, con coeficiente de correlación linear 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:

	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:

	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 fue 0,022 mg/dL con desvío patrón de 0,018 mg/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde el promedio más 3 veces el desvío patrón, y es igual a 0,074 mg/dL.

Linealidad
La reacción es linear 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 ejerce importante función en la composición del esqueleto y en reacciones esenciales como en la coagulación sanguínea, en la mantención de la integridad y permeabilidad de las membranas celulares, en la estimulación de los músculos esqueléticos y cardíacos, en la conducción neuromuscular. La hipercalcemia puede ser observada en el hiperparatiroidismo, tumores malignos, dolencia de Paget (osteíte deformante), hipervitaminosis D, en los casos de inmovilización por fracturas. Niveles séricos disminuídos de Calcio pueden ser observados en el hipoparatiroidismo, insuficiencia renal, deficiencia de vitamina D (raquitismo), pancreatitis aguda, transfusiones masivas de sangre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1. CONNERTY, H. V.; BRIGS, A. R., Amer J. Clin. Pathol., 1.966, 45 - 290.
2. GITELLMAN, H. J., Anal. Biochem, 1.967, 18 - 521.
3. HENRY, R. J., Clinical Chemistry Principles and Technics.
4. JANSEN JW, Helbing AR Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:197- 201.
5. LEARY NO, Pembroke A, Duggan PF. Clin Chem 1992;38: 904 - 8.
6. MARTIN, E. W., Harzards of Medication, 1971.
7. MORGAN BR, Artiss JD, Zak B. Clin Chem 1993;39:1608-12.
8. POTTGEN P, Davis ER. Clin Chem 1976;22:1752.
9. STEM, J., LEWIS V. H. P., Clin. Chim. Acta, 1957, 2 - 576.
10. TIETZ,N.W. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER eds, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1994.
11. TODD; SANFORD; DAVIDSOHN, Diagnósticos Clínicos, 1983.
12. TONKS, D. B., Clin. Chem., 1.963, 9 - 217.
13. 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
14. 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 validad 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

EC

REP

OBELIS S.A.
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENIMIENTO AL CONSUMIDOR
Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 031 5454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit de Calcio Arsenazo III en la ANVISA:10269360126

Revisión: Febrero/2020

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

REF

NÚMERO DEL CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DE LOTE

FECHA DE FABRICACIÓN

ESTABLE HASTA
(último día del mês)

TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

IVD

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EC

REP

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO

PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR

ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL

CONTROL +

CONTROL POSITIVO

CONTROL -

CONTROL NEGATIVO

RIESGO BIOLÓGICO

INFLAMABLE

CORROSIVO

TÓXICO

MARCADO CE

NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

CALCIUM ARSENAZO III

REF: K051

USAGE INSTRUCTIONS



FUNCTION

Quantitative determination of calcium in serum, plasma and urine sample by color reaction. Manual and Automatic application.

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

Reagent Nº 1: Arsenazo - Store between 2 and 8°C. Contains: Arsenazo III 0,2 mmol/L, 8-Hydroxyquinoline < 20 mmol/L, buffers, surfactants and preservative.

Reagent Nº 2: Standard - Store between 2 and 8°C. Contains: Calcium Carbonate 10 mg/dL, stabilizer and preservative.

PRESENTATION

Presentation	Reagent Nº 1	Reagent Nº 2
1	50 mL	3 mL
2	2 x 50 mL	3 mL
3	5 x 20 mL	3 mL
4	5 x 40 mL	3 mL
5	10 x 40 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 professional *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 Nº 1 and Nº 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 Ca⁺², 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 MSDS (Material 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°C¹⁵.

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 Nº 1	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Reagent Nº 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:

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.

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

Calcium (mg/dL) = Absorbance Test x Factor

Urinary Calcium:

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

Ionized Calcium (Cal):

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

Ca = Calcium Serum (mg/dL)

P = Total Proteins (g/dL)

A = Albumin (g/dL)

PROCEDURE LIMITATIONS

Do not use hemolyzed samples.

Icteric and lipemic samples may interfere with measurements.

Proceed to the dosage as follows:

1 - Dosing the sample normally following the described technique. Record the readings.

2 - Add 0,02 mL of the anticoagulant EDTA Bioclin to the blank and test it. Proceed with the new reading hitting the zero with the blank.

3 - Express the difference multiplying the difference between the two readings by the Calibration Factor.

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 in mg/dL, for this method were obtained through the determination of calcium in healthy populations of male and female.

Calcium (Serum or Plasma)	
Umbilical Cord	8,2 - 11,2 mg/dL
Premature	6,2 - 11,0 mg/dL
0 - 10 days	7,6 - 10,4 mg/dL
Infants	9,0 - 11,0 mg/dL
2 - 12 years	8,8 - 10,8 mg/dL
Adults	8,8 - 11,0 mg/dL
Calcium Ion	
1 - 18 years	4,80 - 5,52 mg/dL
Adults	4,6 - 5,4 mg/dL
Calcium Urine	
Adults	Up to 180 mg/24h (With calcium-restricted diet: 500 mg/24h)
	Up to 280 mg/24h (Without calcium-restricted diet)

Critical values

Calcium (serum or plasma): less than 6.0 mg/dL and higher to 14,0 mg/dL.

To convert the values to mg/dL to mmol/L (SI), multiply by 0,25. These values should be used as reference, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE
QUALITY CONTROL

Accuracy
COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY.
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:

	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:

	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 was 0,022 mg/dL with a standard deviation of 0,018 mg/dL. The sensitivity, which indicates the detection 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 plays an important role in the composition of the skeleton and reactions as essential in the clotting blood, in maintaining the integrity and permeability cell membranes, the stimulation of the skeletal and heart muscles, in neuromuscular conduction. The hypercalcemia can be seen in hyperparathyroidism, malignant tumor, Paget's disease (osteitis deformans), hypervitaminosis D, in cases of immobilization for fractures. Lower serum calcium can be observed in hypoparathyroidism, renal failure, deficiency in vitamin D (rickets), acute pancreatitis, massive blood transfusion.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES
1. CONNERTY, H. V.; BRIGS, A. R., Amer J. Clin. Pathol., 1.966, 45 - 290.
2. GITELLMAN, H. J., Anal. Biochem, 1.967, 18 - 521.
3. HENRY, R. J., Clinical Chemistry Principles and Technics.
4. JANSEN JW, Helbing AR Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:197- 201.
5. LEARY NO, Pembroke A, Duggan PF. Clin Chem 1992;38: 904 - 8.
6. MARTIN, E. W., Harzards of Medication, 1971.
7. MORGAN BR, Artiss JD, Zak B. Clin Chem 1993;39:1608-12.
8. POTTGEN P, Davis ER. Clin Chem 1976;22: 1752.
9. STEM, J., LEWIS V. H. P., Clin. Chim. Acta , 1957, 2 - 576.
10. TIETZ,N.W. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER eds, 2a. edição, Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1994.
11. TODD; SANFORD; DAVIDSOHN, Diagnósticos Clínicos, 1983.
12. TONKS, D. B., Clin. Chem., 1.963, 9 - 217.
13. 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
14. 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

 **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

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

ANVISA registration for Calcium Arsenazo III kit: 10269360126

Review: February/2020

UNIVERSAL SYMBOLOGY

 CATALOG NUMBER

 BATCH CODE

 DATE OF MANUFACTURE

 USED BY
(last day of month)

 TEMPERATURE LIMITATION
(store at)

 CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS

 CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE

 IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE

 EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE

 KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT

 MANUFACTURED BY

 CONTROL

 POSITIVE CONTROL

 NEGATIVE CONTROL

 BIOLOGICAL RISK

 INFLAMMABLE

 CORROSIVE

 POISON

 CE MARK

 DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED