

CÁLCULO RENAL

REF K008

INSTRUÇÕES DE USO



FINALIDADE

Método para a determinação dos componentes usuais de Cálculo Renal. Teste somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Bioclin

A análise físico-química do Cálculo Renal é de grande importância clínica na orientação preventiva de novas formações. O kit Cálculo Renal Bioclin permite a identificação rápida, simples e segura de Carbonato, Oxalato, Amônio, Fosfato, Cálcio, Magnésio, Urato e Cistina.

Carbonato: Formação de gás carbônico em meio ácido.

Oxalato: Precipitação seletiva em meio levemente ácido.

Fosfato: Formação de Azul de Molibdênio em presença de Molibdato de Amônio.

Cálcio: Precipitação seletiva em meio neutro.

Magnésio: Formação de cor violácea, por complexação com ligante específico.

Amônio: Formação de cor amarelada com Iodo-Iodeto de Potássio e Mercúrio.

Urato: Formação de Azul de Tungstênio através da redução do Fosfotungstato de Sódio.

Cistina: Formação de cor vermelha em presença de Cianeto-Nitroprussiato de Sódio.

REAGENTES

Todos os reagentes estão prontos para uso. Acompanha o conjunto 01 frasco do Reagente Nº 15 - Padrão, contendo todos os componentes usuais dos Cálculos Renais (Oxalato, Cálcio, Carbonato, Magnésio, Fosfato, Amônia, Cistina e Ácido Úrico), e um frasco do Reagente Nº 8 - Controle Negativo, isento de analitos. Para fins de comparação, esses reagentes devem ser tratados como amostra. **Espera-se que todos os testes do Padrão (R15) resultem positivos e todos os testes do Controle Negativo (R8) resultem negativos.**

APRESENTAÇÃO

O kit é composto por 13 Reagentes, 1 Padrão e 1 Controle Negativo, suficientes para a realização de 10 análises completas.

O kit inclui acessório (conta-gotas) que deve ser utilizado na técnica para medição do reagente Nº 1 e da água destilada ou deionizada.

Reagente	Volume
Nº 1 - Reagente Ácido	10,0 mL
Nº 2 - Oxalato	5,0 mL
Nº 3 - Fósforo I	3,0 mL
Nº 4 - Fósforo II	3,0 mL
Nº 5 - Reagente Alcalino	2 x 8,0 mL
Nº 6 - Cálcio	7,0 mL
Nº 7 - Magnésio	10,0 mL
Nº 8 - Controle Negativo	580mg
Nº 9 - Amônio	5,0 mL
Nº 10 - Ácido Úrico I	5,0 mL
Nº 11 - Ácido Úrico II	5,0 mL
Nº 12 - Cistina I	2,0 mL
Nº 13 - Cistina II	2,0 mL
Nº 14 - Cistina III	2,0 mL
Nº 15 - Padrão	580 mg

*Inclui acessório (conta-gotas).

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Cadinho de porcelana, bico de Bunsen, centrífuga, banho-maria, relógio ou cronômetro, pipetas e tubos de ensaio. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

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

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

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

4- O reagente Nº 1 e Nº 4 contém Ácido Clorídrico e Ácido Sulfúrico respectivamente, que são ácidos fortes. Manueá-los com cuidado.

5- O reagente Nº 5 contém Hidróxido de Sódio e os reagentes Nº 9 e Nº 10 contém Hidróxido de Potássio que são bases fortes. Manueá-los com cuidado.

6- O reagente Nº 7 contém Azida Sódica, irritante para pele e mucosas. Manusear com cuidado.

7- O reagente Nº 13 contém Cianeto que é tóxico. Manusear com cuidado.

8- É conveniente proceder a uma análise completa do Padrão que acompanha o kit, com o intuito de familiarizar-se com os testes.

9- Se o cálculo enviado tiver peso inferior a 40 mg ou o fundo do tubo de Khan não for preenchido, proceder a análise reduzindo à metade o volume de todos os reagentes utilizados na etapa B.1.

10- 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.

11- 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.

12- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
13- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Cálculos Renais

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

TÉCNICA

A) ANÁLISE FÍSICA

Descrever a dimensão, peso (se possível), forma, cor, superfície (lisa, irregular) do Cálculo Renal. Durante sua pulverização, observe sua consistência (pétrea, macia).

B) ANÁLISE QUÍMICA

1- Preparo da Amostra a ser analisada

ATENÇÃO: A amostra só deve ser preparada no dia da realização dos ensaios.

Pulverizar o cálculo. Pesar* aproximadamente 40 – 50 mg do pó homogêneo. Transferir a quantidade pesada para um tubo de ensaio e adicionar 10 gotas do Reagente Nº 5 e 10 gotas de água destilada ou deionizada. Aquecer em banho-maria, a 56°C, por 5 minutos, agitando o tubo 2 a 3 vezes durante este período. Centrifugar a 3000 rpm por 3 minutos. Transferir todo o sobrenadante para um outro tubo e marcá-lo com a letra S (para ser utilizado na análise do sobrenadante) e marcar o tubo contendo o precipitado com a letra P (para ser utilizado solubilizado). Caso o material se solubilize completamente, separar 1,0 mL como sobrenadante e o restante como precipitado.

* Caso o laboratório não tenha condições de pesar a quantidade de cálculo pulverizado necessário para realizar os testes, utilizar uma quantidade suficiente para preencher o fundo do tubo de Khan (12 x 75 mm).

2- Solubilização do Precipitado e análise do Carbonato

CARBONATO: Ao tubo marcado com a letra P, adicionar 10 gotas de Reagente Nº 1, observando simultaneamente

se houve efervescência. Em caso afirmativo, o teste é positivo para Carbonato. Adicionar, em seguida, 10 gotas de água destilada e homogeneizar. Aquecer o tubo até o primeiro sinal de ebulição (em chama direta, chapa aquecedora ou qualquer outro dispositivo de aquecimento). Deixar esfriar e, se houver forte turbidez, centrifugar novamente a 3000 rpm por 3 minutos (para evitar influência nos resultados de Cálcio e Oxalato). Utilizar esta solução para as análises de Oxalato, Cálcio e Magnésio.

3- Análise da Solução do Precipitado

OXALATO: Tomar 0,1 mL da amostra do tubo P e adicionar 5 gotas de Reagente Nº 2. Aguardar 30 segundos. A formação de turvação ou precipitado branco indica a presença de Oxalato.

CÁLCIO: Tomar 0,1 mL da amostra do tubo P e adicionar 7 gotas de Reagente Nº 6. Aguardar 30 segundos. A formação de turvação ou precipitado branco indica a presença de Cálcio.

MAGNÉSIO: Transferir 0,05 mL da amostra do tubo P para um Erlenmeyer e adicionar 20 mL de água destilada ou deionizada. Adicionar a esta solução 1 gota de Reagente Nº 5. Esta será a amostra diluída. Utilizar um tubo de ensaio e adicionar 10 gotas do Reagente Nº 7. Adicionar 0,05 mL da amostra diluída e homogeneizar. O aparecimento de cor violácea ou rosa intenso indica a presença de Magnésio.

4- Análise do Sobrenadante

URATO: Transferir 0,1 mL da amostra do tubo S para um tubo de ensaio. Adicionar 5 gotas do Reagente Nº 10 e 5 gotas do Reagente Nº 11. Aguardar 5 minutos. Se houver aparecimento de cor azul intenso e a mesma persistir durante os 5 minutos há presença de Urato. O aparecimento de cor azul fraca não persistente durante os 5 minutos deve ser interpretado como negativo.

CISTINA: Transferir 0,1 mL da amostra do tubo S para um tubo de ensaio. Adicionar 1 gota do Reagente Nº 12 e 1 gota do Reagente Nº 13. Aguardar 5 minutos. Adicionar 2 gotas do Reagente Nº 14. O aparecimento de cor vermelha intensa indica a presença de Cistina.

Nota: A cor formada desaparece rapidamente. Cuidado ao manipular o Reagente Nº 13. Contém Cianeto.

AMÔNIO: Transferir 0,1 mL da amostra do tubo S para um tubo de ensaio. Adicionar 10 gotas de água destilada ou deionizada. Homogeneizar. Adicionar 5 gotas do Reagente Nº 9. A formação de precipitado laranja - amarelo, indica a presença de Amônio.

Nota: No reagente Nº 9 pode haver precipitação, porém esta não interfere nos resultados dos testes. A cor formada pode adquirir uma tonalidade escura caso haja um teor elevado de Amônio na amostra. A formação de um precipitado branco deve ser interpretada como resultado negativo.

FOSFATO: Transferir 0,1 mL da amostra do tubo S para um tubo de ensaio. Adicionar 1 mL de água deionizada ou destilada e 01 gota do Reagente Nº 1. Homogeneizar. Aquecer o tubo até primeiro sinal de ebulição (em chama direta, chapa aquecedora ou qualquer outro dispositivo de aquecimento) – *Cuidado para não haver projeção do líquido*. Opcionalmente, pode-se aquecer o tubo em água em ebulição por 5 minutos. A seguir, adicionar 2 gotas do Reagente Nº 3. Homogeneizar. Adicionar 2 gotas do Reagente Nº 4. Deixar em repouso 2 minutos e adicionar 2 gotas do Reagente Nº 5. Aguardar 5 minutos para realizar a leitura de cor da reação. O aparecimento da cor azul indica a presença de Fosfato.

Nota: O reagente Nº 3 poderá apresentar uma coloração amarelada. Com isso, a reação, na presença de fosfato deixará de ser azul e passará a ser esverdeada. Contudo, esta alteração não afeta a qualidade e a confiabilidade do resultado.

RESULTADOS

Descrevemos um exemplo de resultado a ser fornecido:

Material: Cálculo Renal

1. Análise Física

- 1.1. Peso: 50 mg
- 1.2. Dimensões: 5 x 3 mm
- 1.3. Forma: Ovalado
- 1.4. Cor: Cinza escuro
- 1.5. Superfície: Irregular
- 1.6. Consistência: Pétre

2. Análise Química

- 2.1. Carbonato: Negativo
- 2.2. Oxalato: Positivo
- 2.3. Fosfato: Positivo
- 2.4. Cálcio: Positivo
- 2.5. Magnésio: Negativo
- 2.6. Amônio: Negativo
- 2.7. Urato: Negativo
- 2.8. Cistina: Negativo

3. Conclusão

O material examinado contém Oxalato e Fosfato de Cálcio.

INTERPRETAÇÃO LABORATORIAL

É importante ao Responsável Técnico entender que:

- 1-** Os cálculos podem ser puros ou mistos. Cálculos mistos podem ser formados por Oxalato Cálcico, Hidroxiapatita [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂] e estruvita (NH₄MgPO₄·6H₂O). A presença de Ácido Úrico e/ou Cistina em cálculos mistos é menos comum, mas pode ocorrer.
- 2-** Nos testes em que se detecta um ânion, necessariamente haverá resultado de um cátion correspondente, e vice-versa.

3- Resultados positivos para Oxalato vão estar acompanhados de resultados positivos para Cálcio, mas nem sempre resultados positivos para Cálcio vêm acompanhados de Oxalato. Nesse caso, observar os resultados para Fosfato e Carbonato.

4- Amônio e Magnésio geralmente têm resultados coincidentes (ou são ambos negativos ou positivos). Caso isso não ocorra, é necessário repetir a análise. Quando positivos, estarão acompanhados de fosfato.

5- Resultados positivos para Fosfato, Amônio, Magnésio e Cálcio e negativos para Oxalato se devem a presença concomitante de estruvita e apatita, e ausência de Oxalato Cálcico.

6- Carbonato geralmente é formado no cálculo durante a formação de Fosfato, através da absorção de gás carbônico, por isso a presença dos dois ânions e do cátion Cálcio é muito comum.

7- Cistina geralmente é isolado dos demais. Em caso de resultado positivo, os demais provavelmente não serão, a não ser que o paciente reúna outras condições para tal: dieta rica em purinas (Ácido Úrico), excesso ou má absorção de Ácido Ascórbico (Oxalato) ou outras patologias.

O KIT DE CÁLCULO RENAL DA BIOCLIN PERMITE A IDENTIFICAÇÃO SEGURA DOS CÁTIONS E ÂNIONS PRESENTES NOS CÁLCULOS. CONTUDO, A AVALIAÇÃO FINAL DO PACIENTE E SEU DIAGNÓSTICO DEVEM SER DADOS PELO MÉDICO ESPECIALISTA, MEDIANTE ANAMNESE E OUTROS EXAMES AUXILIARES.

INTERFERENTES

O teste de Fosfato é sensível à presença de ortofosfatos e pirofosfatos. Sulfetos, sulfitos, hexacianoferatos (II) e tartaratos podem afetar seriamente a reação, gerando falso-negativo. A presença de arseniatos pode provocar um falso positivo. Para os testes de Cálcio e Oxalato, resultados falso-positivos podem ser obtidos na presença de sais de prata. Contudo, nenhum desses interferentes fazem parte da constituição de amostras comuns de cálculos renais. A presença de cálculos de cistina pode provocar uma pequena mudança de coloração no teste de ácido úrico, que desaparece em poucos minutos. O tempo de espera para realizar a leitura recomendado pela técnica é suficiente para que a cor interferente desapareça por completo.

DESEMPENHO DO PRODUTO

CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O kit de Cálculo Renal foi comparado com outro kit para dosagem de Cálculo Renal. De acordo com os resultados de 10 amostras, a correlação foi de 100%. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras diferentes, e os resultados tiveram correlação de 100%.

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras diferentes, e os resultados tiveram correlação de 100%.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Podem-se encontrar cálculos na pélvis renal, no ureter e na bexiga. As pedras de pequeno tamanho podem sair para o exterior com a urina. O estudo da estrutura e composição dos cálculos urinários apontam importantes dados que tem permitido clarear muitas questões a respeito de sua origem e formação. É evidente que sua origem não é única, e que existem vários fatores capazes de induzir a formação de pedras; em cada caso, a formação do cálculo pode dever-se a um desses fatores exclusivamente ou a presença simultânea de vários deles. Flutuações no pH urinário exercem papel fundamental na gênese dos cálculos renais. Normalmente, o pH da urina varia entre 6,0 e 6,5. Em pH abaixo desse valor, em torno de 5,3, o ácido úrico torna-se pouco solúvel e pode cristalizar. O oxalato de cálcio também precipita em pH ácido ou neutro, e a estruvita em pH alcalino, geralmente associada à infecção por micro-organismos como Proteus. A formação de cálculos mistos é favorecida pela obstrução provocada pelos cristais de cálcio seguida de infecção. Essa infecção pode levar ao acúmulo e deposição dos cristais de amônio.

NÚMERO DE TESTES

O conjunto Cálculo Renal Bioclin contém reagentes para 10 análises completas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- HENRY, Richard J.; CANNON, Donald C.; WINKELMAN, James W.. Clinical Chemistry: Principles And Technics. 2. ed. New York: Harper & Row, Publishers, Inc, 1974. 1629 p.
- 2- HENRY, John Bernard. Diagnósticos Clínicos: E Tratamentos Por Métodos Laboratoriais. 20. ed. Barueri, Sp: Manole, 2008. 1726 p. Tradução: Ida Cristina Gubert.
- 3- 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 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

EC

REP

OBELIS S.A.

Português 2/2

Bd. Général Wahis, 53

1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit Cálculo Renal na ANVISA:
10269360091

Revisão: Janeiro/2020

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> TESTES		INFLÂMABEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	REPRESENTANTE EUROPEU AUTORIZADO		MARCA CE
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA



CÁLCULO RENAL

REF K008

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Método para la determinación de los componentes usuales de Cálculo Renal. Prueba solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Bioclin

El análisis físico-químico del Cálculo Renal es de grande importancia clínica en la orientación preventiva de nuevas formaciones. El kit Cálculo Renal Bioclin permite la identificación rápida, simple y segura de Carbonato, Oxalato, Amonio, Fosfato, Calcio, Magnesio, Urato y Cistina.

Carbonato: Formación de gas carbónico en medio ácido.

Oxalato: Precipitación selectiva en medio ligeramente ácido.

Fosfato: Formación de Azul de Molibdenio en presencia de Molibdato de Amonio.

Calcio: Precipitación selectiva en medio neutro.

Magnesio: Formación de color violáceo, por complexación con ligante específico.

Amonio: Formación de color amarillento con Yodo-Yodeto de Potasio y Mercurio.

Urato: Formación del Azul de Tungsteno a través de la reducción del Fosfotungstato de Sodio.

Cistina: Formación de color rojo en presencia de Cianetonitroprosiato de Sodio.

REACTIVOS

Todos los reactivos están prontos para uso. Acompaña al conjunto 01 frasco del Reactivo Nº 15 - Patrón, contenido todos los componentes usuales de los Cálculos Renales (Oxalato, Calcio, Carbonato, Magnesio, Fosfato, Amonio, Cistina y Ácido Úrico), y 01 frasco del Reactivo Nº 8 - Control Negativo libre de analitos. Para finalidad de comparación, estos reactivos deben ser tratados como una muestra. **Espera que todas las pruebas del Padrón (R15) se resultem positivos y todas las pruebas del Control Negativo (R8) se resultem negativos.**

PRESENTACIÓN

El kit es compuesto por 13 Reactivos, 1 Control Negativo y 1 Patrón, suficientes para la realización de 10 análisis completos.

El kit incluye accesorio (cuentagotas) que debe ser utilizado en la técnica para medición del reactivo Nº 1 y del agua destilada o deionizada.

Reactivo	Volumen
Nº 1 - Reactivo Acid	10,0 mL
Nº 2 - Oxalato	5,0 mL
Nº 3 - Fósforo I	3,0 mL
Nº 4 - Fósforo II	3,0 mL
Nº 5 - Reactivo Alcalino	2 x 8,0 mL
Nº 6 - Calcio	7,0 mL
Nº 7 - Magnesio	10,0 mL
Nº 8 - Control Negativo	580 mg
Nº 9 - Amonio	5,0 mL
Nº 10 - Acido Urico I	5,0 mL
Nº 11 - Acido Urico II	5,0 mL
Nº 12 - Cistina I	2,0 mL
Nº 13 - Cistina II	2,0 mL
Nº 14 - Cistina III	2,0 mL
Nº 15 - Patrón	580 mg

*Incluye accesorio (cuentagotas).

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Recipiente de porcelana, boquilla de Bunsen, centrífuga, baño maría, reloj o cronómetro, pipetas y tubos de ensayo. Se encuentran en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte deberá ser de 15 a 30°C. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad.

CUIDADOS ESPECIALES

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

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

3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e insenta de agentes contaminantes.

4- El reactivo Nº 1 y Nº 4 contiene Ácido Clorhídrico y Ácido Sulfúrico respectivamete, que son ácidos fuertes. Manejarlo con cuidado.

5- El reactivo Nº 5 contiene Hidróxido de Sódio y los reactivos Nº 9 y Nº 10 Hidróxido de Potasio, que son bases fuertes. Manejarlo con cuidado.

6- El reactivo Nº 7 contiene Azida de Sódio, irritante para la piel y las membranas mucosas. Manejar con cuidado.

7- El reactivo Nº 13 contiene Cianuro es tóxico. Manejar con cuidado.

8- Es conveniente proceder al análisis completo del Patrón que acompaña el kit, con el intuito de familiarizarse con las pruebas.

9- Si el cálculo enviado tiene um peso inferior a 40mg o el fondo del tubo de Khan no se ha completado, proceder al análisis reduciendo a la mitad el volumen de todos los reactivos utilizados en la etapa B.1.

10- 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.

11- 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.

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

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

MUESTRAS

Cálculos Renales

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

TÉCNICA

A) ANÁLISIS FÍSICO

Describir la dimensión, peso (si posible), forma, color, superficie (lisa, irregular) del Cálculo Renal. Durante su pulverización, observe su consistencia (pétrea, suave).

B) ANÁLISIS QUÍMICO

1- Preparo da Amostra a ser analisada

ADVERTENCIA: La muestra se debe preparar el día de las pruebas.

Pulverizar el cálculo. Pesar* aproximadamente 40 - 50 mg del polvo homogéneo.

Transferir la cantidad pesada a un tubo de ensayo y adcionar 10 gotas del Reactivo Nº 5 y 10 gotas de agua destilada o deionizada.

Calentar en baño maría, a 56°C, por 5 minutos, agitando el tubo 2 a 3 veces durante este período. Centrifugar a 3000 rpm durante 3 minutos. Transferir todo el sobrenadante a otro tubo y marcarlo con la letra S (para ser utilizado en el análisis del sobrenadante) y marcar el tubo conteniendo el precipitado con la letra P (para uso solubilizado). Si el material se solubiliza completamente, separar 1,0 mL como sobrenadante y el restante como precipitado.

* Si el laboratorio no está en condiciones de pesar la cantidad de cálculo pulverizado necesario para realizar las pruebas, utilizar una cantidad suficiente para llenar el fondo del tubo de Khan (12 x 75 mm).

2- Solubilización del Precipitado y análisis del Carbonato

CARBONATO: Al tubo marcado con la letra P, adcionar 10 gotas de Reactivo Nº 1, observando simultaneamente

si hubo efervescencia. En caso afirmativo, el test es positivo para Carbonato. Adicionar, en seguida, 10 gotas de agua destilada y homogenizar. Calentar el tubo hasta la primera señal de ebullición (en llama direta, placa eléctrica y cualquier otro dispositivo de calentamientos). Dejar enfriar y si hay una fuerte turbidez, centrífuga de nuevo a 3000 rpm durante 3 minutos (para evitar la influencia los resultados de Calcio y Oxalato). Utilizando esta solución para el análisis de Oxalato, Calcio y Magnesio.

3- Análisis de la Solución del Precipitado

OXALATO: Tomar 0,1 mL de la muestra de el tubo P y adcionar 5 gotas de Reactivo Nº 2. Aguardar 30 segundos. La formación de turbiación o precipitado blanco indica a presencia de Oxalato.

CALCIO: Tomar 0,1 mL de la muestra de el tubo P y adcionar 7 gotas de Reactivo Nº 6. Aguardar 30 segundos. La formación de turbiación o precipitado blanco indica a presencia de Calcio.

MAGNESIO: Transferir 0,05 mL de la muestra de el tubo P para un Erlenmeyer y adcionar 20 mL de agua destilada o deionizada. Adicionar a esta solución 1 gota de Reactivo Nº 5. Esta será la muestra diluída. Utilizar un tubo de ensayo y adcionar 10 gotas del Reactivo Nº 7. Adicionar 0,05 mL de la muestra diluida y homogenizar. El aparecimiento de color violácea o rosa intenso indica la presencia de Magnesio.

4- Análisis del Sobrenadante

URATO: Transferir 0,1 mL de la muestra de el tubo S para un tubo de ensayo. Adcionar 5 gotas del Reactivo Nº 10 y 5 gotas del Reactivo Nº 11. Espere 5 minutos. Si hay una intensa apariencia de color azul y la misma se mantiene durante 5 minutos se encuentra la presencia de Urato. La aparición de debilidad azul no persistente durante 5 minutos debe ser interpretado como negativo.

CISTINA: Transferir 0,1 mL de la muestra de el tubo S para un tubo de ensayo. Adcionar 1 gota del Reactivo Nº 12 y 1 gota del Reactivo Nº 13. Aguardar 5 minutos. Adcionar 2 gotas del Reactivo Nº 14. El aparecimiento de color rojo intenso indica la presencia de Cistina.

Nota: El color formado desaparece rápidamente. Cuidado al manipular el Reactivo Nº 13. Contiene Cianuro.

AMONIO: Transferir 0,1 mL de la muestra de el tubo S para un tubo de ensayo. Adcionar 10 gotas de agua destilada o deionizada. Homogenizar. Adcionar 5 gotas del Reactivo Nº 9. La formación de precipitado naranja - amarillo, indica la presencia de Amonio.

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NÚMERO DEL CATÁLOGO		ELABORADO POR
	NÚMERO DE LOTE		CONTROL
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	ESTABLE HASTA (último día del mês)		CONTROL NEGATIVO
	TEMPERATURA LIMITE (conservar a)		RIESGO BIOLÓGICO
	CONTENIDO SUFICIENTE PARA <N> TESTES		INFLAMABLE
	CONSULTAR INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	DISPOSITIVO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	EUROPEA REPRESENTANTE AUTORIZADO		MARCADO CE
	PROTEGER DEL LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA



KIDNEY STONE

REF K008

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Method for determination of the usual components of Kidney Stone. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Bioclin

The physical-chemical analysis of Kidney Stone is of great clinical importance in preventive orientation from new formations. The Bioclin Kidney Stone kit allows the fast, simple and secure identification of Carbonate, Oxalate, Ammonium, Phosphate, Calcium, Magnesium, Urate and Cystine.

Carbonate: Formation of carbonic gas in acidic medium.

Oxalate: Selective precipitation in slightly acidic medium.

Phosphate: Formation of Molybdenum Blue in the presence of Ammonium Molybdate.

Calcium: Selective precipitation in neutral medium.

Magnesium: Formation of violaceous, by complexation with specific ligand.

Ammonium: Formation yellowish with Iodine-Iodide Potassium and Mercury.

Urate: Formation of Blue Tungsten through reduction of Sodium Phosphotungstate.

Cystine: Formation of red color in the presence of Sodium Cianetonitroprussiato.

REAGENTS

All the reagents are ready to be used. Included the set 01 bottle of Reagent Nº 15 - Standard, containing all usual components from Kidney Stones (Oxalate, Calcium, Carbonate, Magnesium, Ammonium, Cystine and Uric Acid), and 01 bottle of Reagent Nº 8 - Negative Control, free of analytes. For comparison purposes, these reagents should be treated as a sample. **All Standard (R15) tests are expected to be positive and all Negative Control (R8) tests result in negative.**

PRESENTATION

Kit composed with 13 Reagents, 1 Standard and 1 Negative Control, enough to perform 10 complete analysis. The kit includes an accessory (dropper) to be used in the technique for measuring reagent Nº 1 and distilled or deionized water.

Reagent	Volume
Nº 1 - Acid Reagent	10,0 mL
Nº 2 - Oxalate	5,0 mL
Nº 3 - Phosphorus I	3,0 mL
Nº 4 - Phosphorus II	3,0 mL
Nº 5 - Alkaline Reagent	2 x 8,0 mL
Nº 6 - Calcium	7,0 mL
Nº 7 - Magnesium	10,0 mL
Nº 8 - Negative Control	580 mg
Nº 9 - Ammonium	5,0 mL
Nº 10 - Uric Acid I	5,0 mL
Nº 11 - Uric Acid II	5,0 mL
Nº 12 - Cystine I	2,0 mL
Nº 13 - Cystine II	2,0 mL
Nº 14 - Cystine III	2,0 mL
Nº 15 - Standard	580 mg

*Includes accessory (dropper)

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Porcelain crucible, Bunsen burner, centrifuge, water bath, watch or stopwatch, pipettes, test tubes. Can be found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage and transport temperatures should be between 15 to 30°C. Protect from light and avoid moisture.

SPECIAL CARE

- 1- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.
- 3- Water used in material cleaning must be recent and free of contaminants.
- 4- The reagents Nº 1 and Nº 4 contain Hydrochloric Acid and Sulfuric Acid respectively, which are strong acids. Handle them with care.
- 5- The reagents Nº 5 contain Sodium Hydroxide and reagents Nº 9 and Nº 10 contain Potassium Hydroxide, which are strong bases. Handle them with care.
- 6- The reagent Nº 7 contains Sodium Azide, irritant to skin and mucous membranes. Handle with care.
- 7- The reagent Nº 13 contains Cyanide which is toxic. Handle with care.
- 8- It is convenient to proceed with the complete analysis of Standard that follows the kit, with the purpose of familiarizing yourself with the test.

9- If the stones has sent less than 40 mg or the bottom of the Khan tube is not filled in, proceed with the analysis reducing it to half the volume of all reagents utilized in step B.1.

10- 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.

11- 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.

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

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

SAMPLES

Kidney Stones

PROCESS DESCRIPTION

TECHNIQUE

A) PHYSICAL ANALYSIS

Describe the dimension, weight (if possible), form, color, surface (smooth or irregular) of Kidney Stone. During its pulverization, observe the consistence (petrified, soft).

B) CHEMICAL ANALYSIS

1- Preparing the Sample to be analyzed

ATTENTION: The sample should only be prepared on the day of the tests.

Pulverize the stones. Weigh* approximately 40-50 mg of the homogeneous powder.

Transfer the weighed amount to a test tube, and add 10 drops of Reagent Nº 5 and 10 drops of distilled or deionized water.

Heat in water bath at 56°C for 5 minutes, shaking the tube 2 to 3 times during this period. Centrifuge at 3000 rpm for 3 minutes. Transfer the en tire supernatant to another tube and mark it with the letter S (for use in analysis of the supernatant) and mark the tube containing the precipitate with the letter P (for solubilized use). If the material completely solubilizes, separate 1,0 mL as supernatant and the remaindr as precipitate.

* If the laboratory can not weigh the amount of pulverized the stone required to perform the tests, use a sufficient amount to fill the bottom of the Khan tube (12 x 75 mm).

2- Solubilization of the Precipitate and analysis of Carbonate

CARBONATE: To the tube marked with the letter P, add 10 drops of Reagent Nº 1, observing simultaneously if there is effervescence. If so, the test is positive for Carbonate. Add then 10 drops of distilled water and mix. Heat to the first

sign of boiling (In flame directly, hot plate or any other heating device). Allow to cool and, in case of high turbidity, centrifuge again at 3000 rpm por 3 minutes (to avoid influence on results of Calcium and Oxalate). Use this solution for analysis of Oxalate, Calcium and Magnesium.

3- Analysis of the Solution of the Precipitate

OXALATE: Take 0,1 mL from tube P and add 5 drops of Reagent Nº 2. Wait for 30 seconds. The formation of turbidity or white precipitate indicates the presence of Oxalate.

CALCIUM: Take 0,1 mL from tube P and add 7 drops of Reagent Nº 6. Wait for 30 seconds. The formation of turbidity or white precipitate indicates the presence of Calcium.

MAGNESIUM: Transfer 0,05 mL from tube P to a Erlenmeyer and add 20 mL of distilled or deionized water. Add to this solution 1 drop of Reagent Nº 5. Mix. This will be the diluted sample. Use a test tube of and add 10 drops of Reagent Nº 7. Add 0,05 mL of the diluted sample and mix. The appearance of violaceous or intense pink color indicates the presence of Magnesium.

4- Analysis of Supernatant

URATE: Transfer 0,1 mL from tube S to a test tube. Add 5 drops of Reagent Nº 10 and 5 drops of Reagent Nº 11. Wait 5 minutes. If there is an intense blue color and it persists during the 5 minutes, Urate is present. The appearance of weak blue color not persistent during the 5 minutes should be interpreted as negative.

CYSTINE: Transfer 0,1 mL from tube S to a test tube. Add 1 drop of Reagent Nº 12 and 1 drop of reagent Nº 13. Wait 5 minutes. Add 2 drops of Reagent Nº 14. The appearance of intense red color indicates the presence of Cystine.

Note: The color disappears quickly formed. Caution to manipulate Reagent Nº 13. Contains Cyanide.

AMMONIUM: Transfer 0,1 mL from tube S to a test tube. Add 10 drops of distilled or deionized water. Mix. Add 5 drops of Reagent Nº 9. The formation of precipitate orange - yellow indicates the presence of Ammonium.

Note: Precipitation of the Reagent N° 9 may occur, but it doesn't interfere on the test results. The color formed can acquire a dark color if there is a high concentration of Ammonium in the sample. The formation of a white precipitate should be interpreted as a negative result.

PHOSPHATE: Transfer 0,1 mL from tube S to a test tube. Add 1 mL of deionized or distilled water and 01 drop of Reagent N° 1. Mix. Heat the tube to the first boiling point (direct flame, hot plate or any other heating device) - *Be careful to do not project the liquid.* Optionally, the tube may be heated in boiling water for 5 minutes. Next, add 2 drops of Reagent N° 3. Mix. Add 2 drops of Reagent N° 4. Leave resting in 2 minutes and add 2 drops of Reagent N° 5. Wait for 5 minutes to read the color verification. The appearance of blue color indicates the presence of Phosphate.

Note: Reagent N° 3 may cause a yellowish coloration. With this, the reaction in the presence of phosphate will no longer be blue and will become greenish. However, this change does not affect the quality and reliability of the result.

RESULTS

A model result to be provided is described as follows:

Material: Kidney Stone

1. Physical Analysis

- 1.1. Weight: 50 mg
- 1.2. Dimensions: 5 x 3 mm
- 1.3. Form: Oval
- 1.4. Color: Dark gray
- 1.5. Surface: Irregular
- 1.6. Consistency: Stony

2. Chemical Analysis

- 2.1. Carbonate: Negative
- 2.2. Oxalate: Positive
- 2.3. Phosphate: Positive
- 2.4. Calcium: Positive
- 2.5. Magnesium: Negative
- 2.6. Ammonium: Negative
- 2.7. Urata: Negative
- 2.8. Cystine: Negative

3. Conclusion

The examined material contain Oxalate and Calcium Phosphate.

LABORATORY INTERPRETATION

It is important for the Technical Manager to understand that:

- 1- The calculi can be pure or mixed. Mixed calculi can be formed by Calcium Oxalate, Hydroxyapatite [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂] and struvite (NH₄MgO₄·6H₂O). The presence of Uric Acid and / or Cystine in mixed stones is less common but may occur.
- 2- In tests where an anion is detected, there will necessarily be the result of a corresponding cation, and vice versa.

- 3- Positive results for Oxalate will be followed by positive results for Calcium, but not always positive results for Calcium are followed by Oxalate. In this case, observe the results for Phosphate and Carbonate.
 - 4- Ammonium and Magnesium usually have coincident results (or are both negative or positive). If this does not occur, it is necessary to repeat the analysis. When positive, they will be followed by Phosphate.
 - 5- Positive results for Phosphate, Ammonium, Magnesium and Calcium and negative for Oxalate are due to the concomitant presence of struvite and apatite, and absence of Calcium Oxalate.
 - 6- Carbonate is generally formed in the calculi during the formation of Phosphate through the absorption of carbon dioxide, so the presence of both anions and Calcium cation is very common.
 - 7- Cystine is usually isolated from the others. In the case of a positive result, the others probably will not be, unless the patient has other conditions for this: diet rich in purines (Uric Acid), excess or malabsorption of Ascorbic Acid (Oxalate) or other pathologies.
- The BIOCLIN KIDNEY STONES KIT ALLOWS THE SECURE IDENTIFICATION OF THE CATIONS AND ANIONS PRESENT IN THE CALCULI. HOWEVER, THE FINAL PATIENT EVALUATION AND ITS DIAGNOSIS MUST BE GIVEN BY THE SPECIALIST PHYSICIAN, BY ANAMNESIS AND OTHER AUXILIARY EXAMS.**

INTERFERENT

The Phosphate Test is sensitive to the presence of orthophosphates and pyrophosphates. Sulfides, sulfites, hexacyanoferrates (II) and tartrates can seriously affect the reaction, generating false-negative. The presence of arsenates may cause a false positive. For the Calcium and Oxalate tests, false-positive results can be obtained in the presence of silver salts. However, none of these interferons are involved in the constitution of common renal stone samples. The presence of cystine stones can cause a slight change in staining in the uric acid test, which disappears within minutes. The wait time to perform the recommended reading by the technique is sufficient for the interfering color to disappear completely.

PRODUCT PERFORMANCE
QUALITY CONTROL

Accuracy
METHOD COMPARISON AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY
The Kidney Stone kit was compared with other methods for Kidney Stone dosing kit. According to the results of 10 samples, the correlation was 100%. With these results we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision
REPEATABILITY
The repeatability was calculated from 10 successive determinations using 3 different samples, and the results were 100% correlated.

REPRODUCIBILITY
The reproducibility was calculated from 10 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 different samples, and the results had a correlation of 100%.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE
Stones are found on the renal pelvis, ureter, and bladder. Small stones can come out with urine. The study of the structure and composition of urinary stones points to important data that has allowed to clarify many questions regarding its origin and formation. It is evident that its origin is not unique, and that there are several factors capable of producing the formation of stones; In each given case, the formation of the calculi may be due to one of these factors alone or the simultaneous presence of several of them. Fluctuations in urinary pH play a key role in the genesis of renal calculi. Normally, the urine pH ranges from 6.0 to 6.5. At pH below this value, around 5.3, uric acid becomes poorly soluble and can crystallize. Calcium oxalate also precipitates at acidic or neutral pH, and struvite at alkaline pH, usually associated with infection by microorganisms such as Proteus. The formation of mixed calculi is favored by the obstruction caused by calcium crystals followed by infection. This infection can lead to accumulation and deposition of ammonium crystals.

NUMBER OF TESTS
Biocal Kidney Stone kit contains reagents for 10 complete analysis.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES
1- HENRY, Richard J .; CANNON, Donald C .; WINKELMAN, James W .. Clinical Chemistry: Principles And Technics. 2. ed. New York: Harper & Row, Publishers, Inc, 1974. 1629 p.
2- HENRY, John Bernard. Clinical Diagnoses: And Treatments By Laboratory Methods. 20. ed. Barueri, Sp: Manole, 2008. 1726 p. Translation: Ida Cristina Gubert.
3- 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 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 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

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

ANVISA registration for Kidney Stone kit:
10269360091

Review: January/2020

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MANUFACTURED BY
	BATCH CODE		CONTROL
	DATE OF MANUFACTURE		POSITIVE CONTROL
	USED BY (last day of month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMITATION (store at)		BIOLOGICAL RISK
	CONTAINS SUFFICIENT FOR <N> TESTS		INFLAMMABLE
	CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE		POISON
	EUROPEAN AUTHORIZED REPRESENTATIVE		CE MARK
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED