

FINALIDADE

Sistema colorimétrico para determinação de magnésio em soro e demais líquidos biológicos.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO

Os íons magnésio produzem um complexo corado em meio alcalino, frente ao corante de Mann e Yoe. A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de magnésio.

METODOLOGIA

Mann e Yoe modificado.

REAGENTES

Solução tampão: solução 0,01M de Tetraborato de Sódio.

Reagente de cor: solução 0,3mmolar de Magon Sulfonado.

Solução padrão 2mg/dL: solução contendo 2mg/dL de Magnésio.

APRESENTAÇÃO

Solução tampão 1 x 100mL
 Reagente de cor 1 x 100mL
 Solução padrão 2mg/dL 1 x 3mL

NÚMERO DE TESTES

200 testes 10µL de soro
 100 testes 20µL de soro

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro capaz de medir a absorvância em **505nm** ou **filtro verde**.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipetas semiautomáticas 20µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Água deionizada.
- Cronômetro.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Solução tampão: armazenar à temperatura de 20-30°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

Reagente de cor: armazenar à temperatura de 20-30°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

Solução padrão 2mg/dL: armazenar à temperatura de 20-30°C. Após a abertura, armazenar bem vedado, à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, se obedecidas as condições de armazenamento.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se a aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

AMOSTRA

Soro ou plasma (heparina), líquor e urina. O magnésio permanece estável no soro por 4 dias, à temperatura de 20-30°C, ou 15 dias, à temperatura de 2-8°C. O sangue deve ser colhido com o mínimo de estase, evitando-se amostras hemolisadas, pois as hemácias são ricas em magnésio.

A urina de 24 horas é colhida em frasco que contenha 5mL de ácido clorídrico concentrado.

Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

Rotular 3 tubos de ensaio com **B (branco)**, **T (teste)** e **P (padrão)**.

Proceder como segue:

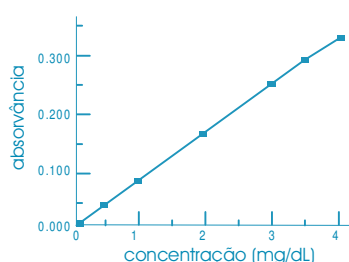
	B	T	P
Solução tampão	1,0mL	1,0mL	1,0mL
Amostra	-	20µL	-
Solução padrão	-	-	20µL
Reagente de cor	1,0mL	1,0mL	1,0mL

Homogeneizar e deixar repousar por 5 minutos, à temperatura de 20-30°C. Ler as absorvâncias do **T (teste)** e **P (padrão)**, em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, em **505nm** ou **filtro verde**, zerando o aparelho com o **B (branco)**. A cor permanece estável por 30 minutos, à temperatura de 20-30°C.

DOSAGEM DO MAGNÉSIO NA URINA

1. Se necessário, acidificar a urina com uma gota de ácido clorídrico concentrado para cada 20mL.
2. Diluir a urina 1:5 e proceder à dosagem.
3. Multiplicar o resultado obtido por 5 (fator de diluição).

CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mg/dL)
1	0.000	0
2	0.042	0,5
3	0.084	1,0
4	0.168	2,0
5	0.256	3,0
6	0.296	3,5
7	0.324	4,0

Obs.: Não utilizar esta curva para determinar o resultado de seu ensaio.

- A curva de calibração é a representação gráfica da relação entre os valores das absorvâncias com os valores das concentrações de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos para confeccioná-la: (1) preparo das soluções padrão; (2) medição dos valores de absorvância das soluções padrão, de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso, e (3) montagem de um gráfico, em papel especial, linear, onde são relacionados os valores de absorvância com os de concentração, conforme demonstrado na figura acima.

As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro "Ultrospec III", Pharmacia



Biotec, comprimento de onda de 505nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.

- A curva de calibração demonstra a linearidade da reação até uma determinada concentração, na qual pode ser determinado um fator de calibração (F), de acordo com a Lei de Beer. As curvas de calibração são utilizadas para substituir os cálculos matemáticos na determinação das concentrações das amostras. A leitura da amostra é localizada no gráfico apropriado e a concentração correspondente, determinada a partir da curva. Tal procedimento será válido se a leitura da amostra estiver no intervalo da linearidade da reação.
- **A reação é linear até a concentração de 3,5mg/dL (ver curva acima). Para valores mais elevados, diluir a amostra com solução fisiológica e proceder-se à nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**
- **O kit de Magnésio Doles possui padrão no intervalo de linearidade da metodologia adotada. O laboratório deve realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit e calcular seu fator de calibração (F), de acordo com o exemplo estabelecido nos cálculos.**
- **O fator deverá ser feito periodicamente e a cada lote do produto.**
- Os padrões utilizados na curva de calibração foram ajustados contra "Magnesium Standard 0,50 mmol/L, item 595-2, de Sigma Chemical Company".

CÁLCULOS

$$Mg \text{ (mg/dL)} = \frac{\text{absorvância } T}{\text{absorvância } P} \times 2$$

Exemplo:

Leituras

Teste (T) : 0,138

Padrão (P): 0,168

$$Mg \text{ (mg/dL)} = \frac{0,138}{0,168} \times 2 = 1,64$$

Como a reação corada segue estritamente a lei de Beer, basta que se determine um fator (F) para cálculo dos resultados.

$$F = \frac{2}{\text{absorvância } P}$$

$$Mg \text{ (mg/dL)} = \text{absorvância } T \times F$$

Para a determinação do fator, recomenda-se dosar em triplicata o padrão, ler as absorvâncias e tirar a média aritmética das mesmas.

Exemplo:

Leituras

Teste (T) : 0,138

Padrão (P): 0,166; 0,168; 0,170

$$\text{Média aritmética} = \frac{0,166 + 0,168 + 0,170}{3} = 0,168$$

$$\text{Fator (F)} = \frac{2}{0,168} = 11,9$$

$$Mg \text{ (mg/dL)} = 0,138 \times 11,9 = 1,64$$

$$Mg \text{ (urina 24 hs)} = \frac{Mg \text{ (mg/dL)} \times \text{vol. urinário (mL)}}{100}$$

Exemplo:

Volume urinário: 1.500mL

Teste (T) : 0,100

Fator (F) : 11,9

Diluição : 1:5

Mg urina (mg/dL) = absorvância (T) x F x 5

Mg urina (mg/dL) = 0,100 x 11,9 x 5 = 5,95

$$Mg \text{ (mg/urina 24 hs)} = \frac{5,95 \times 1500}{100} = 89,25$$

EXPRESSIONÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

$$\text{Magnésio (mmol/L)} = \text{Magnésio (mg/dL)} \times 0,41$$

LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- Soros hemolisados fornecem resultados falsamente elevados, pois as hemácias são ricas em magnésio.
- A reação é linear até a concentração de 3,5mg/dL. Diluir o soro 1:2 e dosar novamente o magnésio quando a concentração encontrada for superior a 3,5mg/dL. Multiplicar o valor encontrado por 2.

CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

- 1.A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- 2.A água utilizada na limpeza do material, no preparo dos reagentes e na dosagem, deve ser de boa qualidade .
- 3.Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
- 4.As pipetagens devem ser precisas.
- 5.O uso do soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).
- 6.Utilize sempre vidraria quimicamente limpa. Deixe a vidraria imersa em solução de ácido nítrico 10%. Posteriormente, enxágüe várias vezes com água destilada.

VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida.

Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

Soro ou Plasma: 1,6 - 2,4mg/dL

Líquor: 2,4 - 3,3mg/dL

Urina 24hs: excreção de 25 - 160mg/24hs

SIGNIFICADO CLÍNICO

A ocorrência mais frequente nas alterações do metabolismo do magnésio é a sua deficiência no soro. Geralmente, tal deficiência está associada a alcoolismo, síndromes de má absorção, diarreia intensa, cetoacidose diabética, cirrose, terapia diurética excessiva e doença renal grave, sem oligúria. Os antibióticos aminoglicosídicos aceleram a perda de magnésio. A hipocalcemia também provoca perda do magnésio através dos rins.

Registrou-se que a hipomagnesiemia acompanha, não raramente, a hiponatremia (22% dos pacientes hiponatremicos) e a hipofosfatemia (25% dos pacientes).

O aumento do nível sérico de magnésio é mais frequente devido à insuficiência renal oligúrica, visto que a excreção urinária do cation está limitada. O uso frequente de laxantes que contêm magnésio (sulfato de magnésio) pode ser causa de hipermagnesiemia.

Os níveis de magnésio sérico nem sempre refletem os níveis corporais totais, visto que os valores séricos podem estar falsamente elevados na desidratação e falsamente diminuídos na hemodiluição.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 34 testes em amostras cujo teor de magnésio situava-se no intervalo de 1,4 a 2,4mg/dL. A comparação do kit de Magnésio Doles (Y) com um método de referência (X) deu origem à seguinte equação de regressão linear: $Y = 1,014X - 0,029$, sendo o coeficiente de correlação 0,91.

Testes de recuperação com o kit de Magnésio Doles mostraram recuperação de $99 \pm 3\%$.

Repetitividade: em uma amostra foram realizadas 20 dosagens sucessivas, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra
Concentração-média (mg/dL)	2,007
Desvio padrão	0,064
Coefficiente de variação (%)	3,19

Reprodutibilidade: foram realizadas 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra
Concentração-média (mg/dL)	2,192
Desvio padrão	0,084
Coefficiente de variação (%)	3,83

Especificidade: a presente metodologia é específica para determinação de íons Magnésio.

Sensibilidade: a absorvância encontrada, de 0,01, corresponde a 0,12mg/dL de concentração de Magnésio, quando os testes são realizados em espectrofotômetro, a 505nm. A sensibilidade do sistema está diretamente relacionada com a do aparelho utilizado no laboratório.

Diluição da matriz: estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que não há interferência na sensibilidade diagnóstica da presente metodologia.

Substâncias interferentes: as amostras hemolisadas fornecem resultados falsamente elevados, pois as hemácias contêm três vezes mais magnésio do que o soro. Amostras colhidas com citrato, oxalato ou EDTA, não são utilizadas para esta análise, já que esses compostos formam quelatos com íons magnésio. Amostras intensamente lipêmicas não devem ser utilizadas, pois a turbidez da amostra irá interferir na leitura da reação.

Certas drogas podem interferir nos níveis de Magnésio (ver em limitações do sistema). Para controle de tal interferência, recomenda-se que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Mann, C.K., Yoe, J.H.: *Ann Chem.* 28, 202, 1956.
- Mann, C.K., Yoe, J.H.: *Anal. Chim. Acta* 16-155, 1957.
- Faulkner W. R., Meites S.: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, 277-281, 1982.
- Ravel R.: *Laboratório Clínico- Aplicações Clínicas dos Achados Laboratoriais*, 4ª edição; 284, 1988.
- Kaplan L.A., Pesce A.J.: *Química Clínica*, 1031-1036, 1990.
- Tietz N.W.: *Clinical Guide To Laboratory Tests*, 2ª edição, 380-382, 1990.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle Interno da Qualidade Analítica*, 1ªed. março/1995.
- Doles : dados de arquivo.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**. Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- 1.O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro
Caixa Postal 1051

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

email: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810046

Revisão: 11 (08/2009)

NBR ISO 9001

**Sistema da Qualidade
certificado desde 1999**

