

**Método**

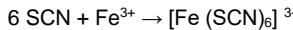
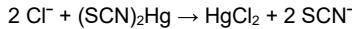
Colorimétrico.

**Finalidade**

Sistema destinado a determinação quantitativa de íons cloreto no soro, plasma, urina e líquor.

**Somente para uso diagnóstico in vitro.**
**Princípio**

Os íons cloreto reagem com tiocianato de mercúrio formando cloreto mercúrio e íons tiocianato, que reagem com os íons férrico formando tiocianato férrico, de cor vermelha, proporcional à concentração de cloretos na amostra.


**Significado Clínico**

O cloreto é o principal ânion do líquido extracelular (LEC), sendo importante na regulação da manutenção e distribuição de água, no balanço aniónico e catiônico do LEC e na pressão osmótica. Sua concentração no sangue é regulada pelos rins, glândulas suprarrenais, pulmões, pele, trato gastrointestinal e pH sanguíneo. Em várias situações clínicas, pode ocorrer diminuição (hipocloremia) ou aumento (hipercloremia) em sua concentração plasmática. Hipocloremia - Em nefrites associadas com pielonefrites crônicas, e pacientes em crise Addisoniana, encontram-se valores de Cloretos diminuído. Vômitos prolongados ou persistente secreção gástrica podem levar a perdas de Cloro e valores plasmáticos baixos.

Ocorrem ainda hipocloremia na alcalose metabólica, intoxicação com brometo, lesões cranianas, defeito na absorção renal. Hiperclorémia - Podem ser citadas causas patológicas: insuficiência renal aguda, acidose metabólica, síndrome nefrótica. No diabetes insípidos, na hiperfunção adrenocortical e no hiperparatireoidismo. Na fibrose cística, doença sistêmica que leva a obstruções intestinais, cirrose biliar e anormalidades pulmonares, valores altos de Cloretos no suor são importantes indicativos de diagnóstico.

**Reagentes**

**Reagente nº 1 - Reagente de Cor** - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Tiocianato de Mercúrio 2 mmol/L, Cloreto de mercúrio >0,8 mmol/L. Nitrato férrico >20 mmol/L, Ácido nítrico 28 mmol/L. Manusear com cuidado - Reagente tóxico.

**Reagente nº 2 Padrão** - Conservar entre 15 e 30°C. Contém: Cloretos 100 mEq/L e Azida Sódica 7,7 mmol/L.

**Estabilidade e Condições de Armazenamento**

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem externa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evitado a contaminação durante o uso. A temperatura de armazenamento deverá ser de 15° a 30°C.

**Cuidados Especiais e Precauções**

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Reagente de Cor (1) contém Tiocianato de Mercúrio que é tóxico.
- O Padrão (2) contém azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em [www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br) ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

**Materiais Necessários e Não Fornecidos**

- Analizador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiras, estantes;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro.

**Amostra**

Soro, plasma (Heparina), urina e líquor. Separar das hemácias imediatamente após a coleta. O cloreto no soro ou plasma é estável por cinco dias entre 2 e 8°C, quando livres de contaminação. Urina utilizar amostra colhida no período de 24 horas, não havendo necessidade de adicionar conservantes. Líquor utilizar o sobrenadante da amostra centrifugada. O cloreto no líquor é estável por cinco dias entre 2 e 8°C.

**Interferências e Limitações**

Concentrações de bilirrubina até 18,1 mg/dL, triglicérides até 1216 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de hemoglobina maior que 433 mg/dL produzem interferências significativas nas amostras.

**Preparação dos Reagentes**

Reagente líquido pronto para uso.

**Procedimento Técnico**
**Equipamentos Automáticos**

Para determinação em equipamento automático, verificar no site [www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br)

**TÉCNICA** - Soro, plasma ou líquor: Marcar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Reagente de Cor (1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Amostra	---	0,01 mL	---
Padrão (2)	---	---	0,01 mL

Homogeneizar bem e manter em temperatura ambiente por 2 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 450 nm (450- 505 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 120 minutos.

**CÁLCULOS**

Cloretos (mEq/L) = (Absorbância da Teste ÷ Absorbância do Padrão) × Concentração do Padrão

Fator de Calibração = Concentração do Padrão ÷ Absorbância do Padrão

**Exemplo com Padrão**

Absorbância do Teste = 0,336

Absorbância do Padrão = 0,321

Concentração do Padrão = 100 mEq/L

Cloretos =  $(0,336 \div 0,321) \times 100 = 105 \text{ mEq/L}$

**Exemplo com Fator de Calibração**

$F_c = 100 \div 0,321 = 312$

Cloretos =  $0,336 \times 312 = 105 \text{ mEq/L}$

**Cálculo para Urina de 24 horas**

$m\text{Eq}/24 \text{ horas} = *m\text{Eq/L} \times \text{volume urinário de 24 h em litro}$

\* valor corrigido pelo fator de diluição.

- Homogeneizar a urina, medir o volume e separar uma amostra de cerca de 20 mL.

- Centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm.

- Diluir uma alíquota da urina centrifugada na proporção de 1:2 com água purificada (quando necessário, a diluição da urina deverá ser alterada para se obter resultado dentro do intervalo operacional do método).

**Características do Desempenho**
**Comparação de Métodos**

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = -5,637 + 01,073 \* Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,993.

**Sensibilidade**

Uma amostra proteica não contendo Cloretos, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,5500 mEq/L equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0552 mEq/L.

A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 0,7157 mEq/L.

**Linearidade**

A reação é linear entre 150 mEq/L. Para valores maiores, diluir a amostra com água destilada ou deionizada, repetir a determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

**Repetitividade**

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mEq/L)	79,35	101,04	123,68
Desvio Padrão (mEq/L)	0,15	0,78	0,57
Coeficiente de Variação (%)	0,19	0,77	0,46

**Reprodutibilidade**

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mEq/L)	53,58	97,48	118,04
Desvio Padrão (mEq/L)	0,27	1,05	0,53
Coeficiente de Variação (%)	0,50	1,08	0,45

**Valores de Referência**

Os valores de referência em mEq/L, para o presente método, foram obtidos através da determinação de Cloretos em populações saudáveis do sexo masculino e feminino. Soro ou plasma (Todas as idades): 96 a 107 mEq/L Urina: 150 a 250 mEq/24 horas Líquor: 118 a 132 mEq/L.

**Controle Interno da Qualidade**

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

**Observações**

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.

- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens. No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

**Referências Bibliográficas**

- 1- ZALL, D. M.; FISHER, D.; GARNER, M. Q. Photometric determination of chlorides in water. *Anal. Chem.* v.28, p.1665-1668, 1956.
- 2- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 3- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. *Clin. Chem.* v.27 p.493-501, 1981.
- 4- SCHALES O.; SCHALES S., *J. Biol. Chem.*, 1941, 140, 879.
- 5- BENNINGTON, L. James, *Dict & Encycl. of Lab. Med. and tech.*, 1.984.
- 6- BURTIS, A. Carl; Ashwood, R. Edward, *Clín., Chem.*, *Tietz Text book of*; 2nd. ed., 1.986, 1366.
- 7 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

**Termos e Condições de Garantia**

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

**Apresentação**

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA079 - 50	50 mL	1 x 50 mL	1 x 3 mL

**■ Bioanalítica Diagnóstica S/A.**

Rua Álvares da Silva, 12 - União

CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil

Tel. +55 31 3657-0051

[www.bioanalitica.com.br](http://www.bioanalitica.com.br)

E-mail: [bioanalitica@bioanalitica.com.br](mailto:bioanalitica@bioanalitica.com.br)

CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira

SAC: 0800 006 8111

E-mail: [sac@bioanalitica.com.br](mailto:sac@bioanalitica.com.br)

Revisão: Outubro / 2022.