

Método

Colorimétrico.

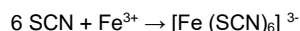
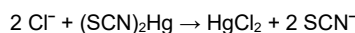
Finalidade

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

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 aniônico 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. Hipercloremia - Podem ser citadas causas patológicas: insuficiência renal aguda, acidose metabólica, síndrome nefrótica. No diabetes insípido, 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 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 ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

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

Amostra

Soro, plasma (Heparina), urina e líquido. 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 líquido 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

TÉCNICA - Soro, plasma ou líquido: 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 ÷ 0,321) × 100 = 105 mEq/L

Exemplo com Fator de Calibração

Fc = 100 ÷ 0,321 = 312

Cloretos = 0,336 × 312 = 105 mEq/L

Cálculo para Urina de 24 horas

mEq/24 horas = *mEq/L x 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 |
| Coefficiente 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 |
| Coefficiente 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 sadias 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

- ZALL, D. M.; FISHER, D.; GARNER, M. Q. Photometric determination of chlorides in water. Anal. Chem. v.28, p.1665-1668, 1956.
- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981.
- SCHALES O.; SCHALES S., J. Biol. Chem., 1941, 140, 879.
- BENNINGTON, L. James, Dict & Encycl. of Lab. Med. and tech., 1.984.
- BURTIS, A. Carl; Ashwood, R. Edward, Clín., Chem., Tietz Text book of; 2nd. ed., 1.986, 1366.
- 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
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br
CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira
SAC: 0800 006 8111
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.