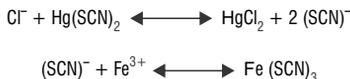


Finalidade . Sistema colorimétrico para a determinação quantitativa da concentração de cloretos em amostras de soro, plasma (Heparina), urina e líquido através de reação de ponto final.

Uso profissional

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio^{1,2} . Os íons cloreto presentes na amostra reagem com tiocianato de mercúrio formando cloreto mercúrico e íons tiocianato. Os íons tiocianato quando combinados com os íons férrico formam o tiocianato férrico, conforme a equação abaixo:



O tiocianato férrico possui coloração amarela e a intensidade da cor formada, medida entre 450 e 505 nm, é proporcional à concentração de cloretos na amostra.

Características do sistema^{1,2,8,9} . O método Cloretos da Labtest é um procedimento simples e rápido para a determinação colorimétrica de cloretos nos líquidos biológicos.

O sistema é linear até 130 mEq/L.

Os dados de repetitividade e reprodutibilidade demonstram que o método fornece resultados que atendem as especificações desejáveis de erro máximo, baseadas nas especificações CLIA.

O método não sofre interferência da bilirrubina em concentrações de até 38 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL e triglicérides até 1000 mg/dL, obtendo-se excelente correlação com as determinações por Eletrodo Íon Seletivo (ISE).

O método é facilmente aplicável em analisadores automáticos capazes de medir com exatidão uma reação de ponto final entre 450 e 505 nm. O sistema Cloretos Liquiform também pode ser utilizado em aplicações manuais utilizando fotômetros ou instrumentos semiautomáticos.

Metodologia² . Tiocianato de mercúrio.

Reagentes

1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2 - 30 °C.

Manusear com cautela, reagente tóxico. Não pipetar com a boca. Contém Tiocianato de mercúrio 2,0 mmol/L, Cloreto de mercúrio >0,8 mmol/L, Nitrato férrico >20 mmol/L, Ácido nítrico 28 mmol/L e estabilizador.

2. [CAL] - Padrão - Cloretos 100 mEq/L - Armazenar entre 2 - 30 °C.

Após o manuseio sugere-se armazenar bem vedado para evitar evaporação.

Os reagentes não abertos quando armazenados nas condições indicadas são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

Não utilizar Reagente 1 ou Padrão quando estes apresentarem sinais de contaminação (turvação, formação de precipitados ou mudança na coloração).

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. O Reagente 1 contém tiocianato de mercúrio, que é tóxico.

Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

Materiais necessários e não fornecidos

1. Fotômetro capaz de medir, com exatidão, absorvância entre 450 e 505 nm.
2. Pipetas para medir amostras e reagente.
3. Cronômetro.

Amostra³

Usar soro, plasma (Heparina), urina e líquido.

Importante . Plasmas colhidos em citrato e EDTA fornecem resultados de cloretos falsamente diminuídos.

Para evitar a passagem do cloreto para as hemácias, o plasma ou soro devem ser separados até 1 hora após a colheita. O analito é estável no soro ou no plasma durante 7 dias quando armazenado entre 15 - 25 °C, 4 semanas entre 2 - 8 °C e vários meses a 10 °C negativos.

Para dosagem no líquido ou na urina, utilizar amostras centrifugadas.

Para dosagem no suor sugerimos utilizar a metodologia de Eletrodo Íon Seletivo (ISE).

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las, deve-se seguir as normas estabelecidas para Biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências^{1,9}

Concentrações de bilirrubina até 38 mg/dL, hemoglobina até 180 mg/dL e triglicérides até 1000 mg/dL não produzem interferências significativas.

Concentrações de triglicérides acima de 1000 mg/dL produzem resultados falsamente elevados. Neste caso o branco de amostra não é aplicável.

Para avaliar a concentração aproximada de hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: Diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85%) e medir a absorbância em 405 ou 415 nm acertando o zero com água deionizada ou destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{415} \times 467$$

Procedimento

Ver linearidade e observação¹.

Soro, plasma (Heparina) e líquido.

Urina: Diluir amostra 1:2 com água deionizada. Multiplicar o resultado obtido por 2.

Identificar 3 tubos de ensaio e proceder como descrito a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Reagente 1	1 mL	1 mL	1 mL
Amostra	-----	0,01 mL	-----
Padrão	-----	-----	0,01 mL

Homogeneizar e incubar a temperatura ambiente durante 2 minutos. Determinar as absorbâncias do teste e do padrão em 450 nm (450 a 505 nm) ou filtro verde-azul, acertando o zero com o branco. A cor é estável por 2 horas.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado. Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste, e o procedimento de cálculos se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes de amostra menores que 10 microlitros são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos . Ver linearidade.

$$\text{Cloreto (mEq/L)} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 100$$

O resultado também pode ser obtido utilizando o fator de calibração:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{100}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Cloreto (mEq/L)} = \text{Absorbância do Teste} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplos

Os dados apresentados a seguir são ilustrativos e não devem ser utilizados para calcular resultados no laboratório.

Absorbância do Teste: 0,562

Absorbância do Padrão: 0,524

$$\text{Cloreto (mEq/L)} = \frac{0,562}{0,524} \times 100 = 107$$

ou

$$\text{Fator de calibração} = \frac{100}{0,524} = 190$$

$$\text{Cloreto (mEq/L)} = 0,562 \times 190 = 107$$

$$\text{Urina (mEq/24horas)} = \text{mEq/L} \times \text{volume (L)}.$$

Calibração

Calibrações manuais

Obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes ou quando o controle interno da qualidade indicar.

Sistemas automáticos

Branco de reagente: água deionizada.

Usar calibrador da Linha Calibra - Labtest.

Intervalos de calibração

Calibração de 2 pontos (Branco e Calibrador) ao mudar de lote de reagente.

Calibração de 2 pontos (Branco e Calibrador) quando o controle da qualidade indicar.

Intervalo operacional . O resultado da medição é linear até 130 mEq/L. Para valores maiores, diluir a amostra com água destilada ou deionizada, realizar nova medição e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Controle interno da qualidade^{4,6,7,8} . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorar a imprecisão da medição e desvios da calibração.

Sugere-se que as especificações para o coeficiente de variação e erro total sejam baseadas nas especificações CLIA.

Sugere-se utilizar os produtos da linha Qualitrol - Labtest para controle interno da qualidade em ensaios de química clínica.

Intervalo de referência¹. Estes valores devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, sua própria faixa de valores de referência.

Soro ou plasma (todas as idades) . 98 a 110 mEq/L.

Urina . 110 a 250 mEq/24 horas.

Líquor . 113 a 127 mEq/L.

Conversão: Unidades Convencionais (mEq/L) x 1,0 = Unidades SI (mmol/L)

Características do desempenho^{7,8,9}

Estudos de recuperação . Em uma amostra com concentração de cloretos igual a 84 mEq/L foram adicionadas quantidades diferentes do analito, obtendo-se recuperação entre 100 e 103%.

Estudos de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método ISE utilizando amostras com valores situados entre 90 e 140 mEq/L. A comparação resultou na equação da regressão $y = 0,7997x + 19,125$ e um coeficiente de correlação (r) igual a 0,998. O erro sistemático total (constante e proporcional) verificado no nível de decisão 94 mEq/L foi igual a 0,32% e no nível de decisão 112 foi de 2,9%. Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Estudos da precisão

Repetitividade - imprecisão intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	94	0,39	0,42
Amostra 2	20	112	0,70	0,63

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	94	0,97	1,03
Amostra 2	20	112	1,17	1,04

O erro total (erro aleatório + erro sistemático) estimado é de 2,3% para o nível de 94 mEq/L e de 4,9% para o nível de 112 mEq/L. Os resultados indicam que o método atende à especificação desejável para erro total ($\leq \pm 5\%$) baseada nas especificações CLIA.

Limite de detecção . Uma amostra não contendo cloretos foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio, tendo sido encontrado um valor igual a 0,44 mEq/L, equivalente à média de 20 replicatas mais três desvios padrão.

Efeitos da diluição da matriz . Três amostras com concentrações iguais a 130, 118 e 105 mEq/L foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema na diluição da matriz com água deionizada. Usando fator de diluição de 2 e 4 foram encontradas recuperações entre 101 e 105%.

Significado clínico⁵ . Os cloretos são os ânions mais abundantes do líquido extracelular e, juntamente com o sódio, desempenham um importante papel na manutenção da distribuição de água no organismo, da pressão osmótica do plasma e na neutralidade elétrica.

O adulto ingere normalmente cerca de 150 mmol de ions cloreto por dia. Esta quantidade é quase totalmente absorvida pelo sistema digestivo. O excesso de cloretos é excretado na urina e suor. O suor excessivo estimula a secreção de aldosterona que atua sobre as glândulas sudoríparas para reabsorver mais sódio e cloretos.

A hipocloremia (redução dos níveis de cloretos plasmáticos) é observada em algumas situações, tais como:

- Déficit digestório, como falta de ingestão de sal, diarreia intensa, aspiração naso-gástrica ou vômitos intensos;
- Nefrites com perda de sal, provavelmente por deficiência na reabsorção tubular (Pielonefrite crônica);
- Abuso de diuréticos;
- Enfermidade de Addison, onde os pacientes em crise Addisoniana apresentam níveis de cloreto séricos diminuídos;
- Acidose metabólica causada pela excessiva produção ou diminuída excreção de ácidos orgânicos, como os casos de cetoacidose diabética ou insuficiência renal. Nestes casos, o cloreto é parcialmente substituído pelo excesso de ânions, como o b-hidroxibutirato, acetoacetato, lactato e fosfato;
- Alcalose metabólica em decorrência de déficit de cloreto em ausência de déficit de sódio;
- Excesso de mineralocorticóides (Aldosteronismo);
- Intoxicação pelo bromo;
- Condições associadas com a expansão do volume do líquido extracelular.

Já a hiperclorémia (aumento dos níveis de cloretos plasmáticos) está geralmente associada com a hipernatremia (desequilíbrio da concentração de sódio no sangue) e também:

- Acidose metabólica, incluindo aquelas secundárias à perda de grande quantidade de bicarbonato, como nas diarreias prolongadas e nas ureteroenterostomias;
- Fibrose cística. Em indivíduos portadores desta patologia, a concentração de cloretos no suor encontra-se elevada, sendo este um fenômeno útil para o diagnóstico da doença.
- Gamopatias mono e policlonais;
- Hiperparatireoidismo;
- Nefropatias;
- *Diabetes mellitus*;
- Intoxicação por salicilato;

A excreção urinária de cloreto encontra-se aumentada diante de diureses maciças por várias causas, como observado na depleção de potássio e insuficiência adrenocortical. Ao contrário, a excreção urinária de cloreto diminui quando há perda aumentada por outras vias, bem como na hiperfunção adrenocortical e na reação de stress pós-operatório.

Observações

1. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos.

A água destilada ou deionizada utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágue final da vidraria, deve ter resistividade ≥ 1 megaohm.cm ou condutividade ≤ 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

2. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3ª edição, Washington: AACC Press, 1990.

Referências

1. Burtis C.A, Ashwood E.R. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th edition, Elsevier Saunders Company 2006;989-990.
2. Zall D.M., Fisher D., Garner M.Q. Photometric determination of chloride in water. Anal Chem, 28, 1665-68 (1956).
3. Chronolab - "The Quality of Diagnostic samples" - www.diagnosicsample.com. Acesso em 25/02/2010.
4. Inmetro - Boas Práticas de Laboratório Clínico e Listas de Verificação para Avaliação, Qualitymark eds, Rio de Janeiro, 1997.
5. Toffaletti, J.G. "Electrolytes" In: Bishop, M.L., Duben-Engelkirk, J.L., Fody, E. P. Clinical Chemistry: principles, procedures, correlations. 3 ed. Philadelphia. Lippincott, 1996. p 255-278.
6. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
7. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Growth T.1981;27:493-501.

8. CLIA Requirements for Analytical Quality - Westgard QC - Federal Register February 28, 1992;57(40):7002-186 - http://www.westgard.com/cli.htm. Acesso em 18/02/2010.

9. Labtest: Dados de Arquivo.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo	
Cloretos Liquiform	115-1/50	RT1	1 X 50 mL
		CAL	1 X 3 mL

Estão disponíveis aplicações para sistemas automáticos.

O número de testes em aplicações automáticas **depende dos parâmetros de programação.**

Informações ao consumidor

[Termos e condições de garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33240-152
Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Edição: Maio, 2010
Revisão: Abril, 2011
Ref.: 280122(01)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control
	Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control
	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control
	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Periodo após abertura Periodo post-abertura Period after-opening		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before		

Ref.: 140214 |