

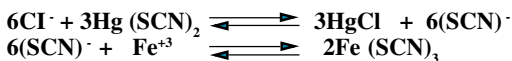
FINALIDADE

Sistema colorimétrico para determinação dos cloretos no soro, plasma (heparina), líquor e urina.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

PRINCÍPIO

Em meio ácido, na presença de Sulfocianeto de Mercúrio e Nitrato Férrico, os íons cloreto formam um complexo corado de acordo com a seguinte reação:



O complexo corado final (Sulfocianeto Férrico) absorve luz em 510nm ou filtro verde.

O aumento de absorção de luz é proporcional à concentração de cloretos na amostra.

REAGENTES

Reagente de cor: contém por litro: Sulfocianeto de Mercúrio 1,4mmol, Nitrato Férrico 2,5mmol, Óxido Amarelo de Mercúrio 0,13mmol e Ácido Nítrico 50,5mmol. Contém ainda estabilizantes e detergente não iônico.

Solução padrão 100mmol/L: Cloreto de Sódio 100mmol/L em meio protético.

APRESENTAÇÃO

Reagente de cor 1 x 100mL
Solução padrão 100mmol/L 1 x 3mL

NÚMERO DE TESTES

Manual 50 testes (20µL amostra/2mL Reag. de Cor)
100 testes (10µL amostra/1mL Reag. de Cor)
Automação 260 testes

Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.

EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro capaz de medir as absorvâncias em 510nm ou filtro verde.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipeta semiautomática de 20µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Cronômetro.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Reagente de cor: armazenar à temperatura ambiente (20-30°C), ao abrigo da luz. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo, obedecidas as condições de armazenamento.

Solução padrão 100mmol/L: armazenar à temperatura ambiente (20-30°C). Estável até a data de vencimento indicada no rótulo, se obedecidas as condições de armazenamento. Após aberto, manter sob refrigeração (2-8°C) para evitar evaporação.

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 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 (não hemolisado), líquor, urina e plasma com heparina. Outros anticoagulantes podem interferir com a reação. O cloreto permanece estável no soro por uma semana à temperatura de 2-8°C. Logo que seja possível, separar o soro ou o plasma, para evitar alteração no equilíbrio iônico por modificações metabólicas e de pH.

Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

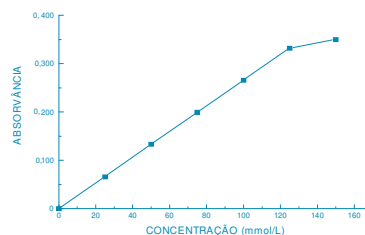
Identificar 3 tubos de **B (branco)**, **T (teste)** e **P (padrão)**.

Proceder como segue:

	B	T	P
Reagente de cor	2,0mL	2,0mL	2,0mL
Solução padrão	-	-	20µL
Amostra	-	20µL	-

Misturar e deixar repousar durante 2 minutos à temperatura ambiente (20-30°C). Proceder à leitura das absorvâncias em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, em 510nm ou filtro verde, zerando o aparelho com o branco (**B**). A cor final permanece estável por 1 hora, à temperatura ambiente (20-30°C).

CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mmol/L)
1	0.000	0
2	0.066	25
3	0.133	50
4	0.199	75
5	0.266	100
6	0.332	125
7	0.350	150

Obs.: Não utilizar esta curva para determinar o resultado do 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 510nm 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.
- **A reação é linear até a concentração de 125mmol/L (ver curva acima). Obtendo-se valores mais elevados, diluir a amostra com água destilada ou deionizada e proceder-se a nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**



- O kit de Cloretos 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 abaixo.
- O fator deverá ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.
- Os padrões utilizados na curva de calibração foram ajustados contra Carbonate/Chloride - Combined Standards Set (70, 100 e 130 mmol/L cloreto) - catálogo 955-11- Sigma Chemical Company.

CÁLCULOS

- Soro, plasma e líquido

$$\text{Cloretos (mmol/L)} = \frac{\text{absorvância teste}}{\text{absorvância padrão}} \times 100$$

Exemplo:

Leituras

Padrão = 0,266

Teste = 0,199

$$\text{Cloretos (mmol/L)} = \frac{0,266}{0,232} \times 100 = 114,6$$

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

$$\text{Fator (F)} = \frac{100}{\text{absorvância padrão}}$$

$$\text{Cloretos (mmol/L)} = \text{absorvância teste} \times F$$

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

Exemplo:

Leituras

Padrão = 0,266 / 0,265 / 0,267

$$\text{Média aritmética} = \frac{0,266 + 0,265 + 0,267}{3}$$

$$\text{Fator (F)} = \frac{100}{0,266} = 376$$

Leitura do teste = 0,232

$$\text{Cloretos (mmol/L)} = 0,232 \times 376 = 114,6$$

2. Urina de 24 horas

$$\text{Cloretos (mmol/L)} = \frac{\text{absorvância teste}}{\text{absorvância padrão}} \times 100$$

$$\text{Cloretos (mmol/24 horas)} = \text{Cloretos na urina (mmol/L)} \times \frac{\text{Vol. urinário de 24 horas (mL)}}{1,000}$$

Exemplo:

Leituras:

Padrão = 0,266

Urina = 0,267

Vol. urinário de 24 horas = 1500mL

$$\text{Cloretos (mmol/L)} = \frac{0,267}{0,266} \times 100 = 100$$

$$\text{Cloretos (mmol/24 horas)} = 100 \times \frac{1,500}{1,000} = 150$$

EXPRESSIONÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

Os resultados já são expressos em Unidades S.I.

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.
- Algumas drogas como: acetazolamida, Cloreto de Amônio, andrógenos, clorotiazídicos, cortisona, estrógenos, hidroclorotiazida, metildopa, anti-inflamatórios não esteroides podem elevar os níveis de cloretos no sangue.
- Na intoxicação por bromo, os valores de cloro no soro apresentam-se elevados.
- Algumas drogas como: aldosterona, bicarbonatos, corticosteróides, cortisona, hidrocortisona, diuréticos tiazídicos podem reduzir os níveis de cloretos no sangue.
- As metodologias utilizadas na dosagem do cloro quantificam também o bromo.
- Valores diminuídos dos níveis de cloretos são observados em amostras pós-prandiais. Tal fato ocorre devido ao aumento da síntese de Ácido Clorídrico pelas células parietais do estômago.
- As dosagens de cloreto não são usadas isoladamente, sendo correlacionadas com as dosagens de sódio, potássio e CO_2 .
- A excreção urinária de cloretos varia com a dieta.

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, aminas e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
- 4.As pipetagens devem ser precisas.
- 5.O uso de 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**).

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	96 - 105mmol/L
Líquor	118 - 132mmol/L
Urina	
Adultos	110 - 250mmol/24horas
Recém nascidos	1.7 - 8.5mmol/24horas
Crianças	15 - 40mmol/24 horas

SIGNIFICADO CLÍNICO

A dosagem de cloreto é usada na investigação do equilíbrio ácido-básico, balanço hídrico e cetoacidose. Os níveis de cloreto se correlacionam com os níveis de sódio.

Valores elevados são encontrados em casos de desidratações hipertônicas, em acidoses tubulares renais (acidose metabólica hiperclorêmica), infusão excessiva de solução fisiológica, na intoxicação por salicilatos, no hiperparatireoidismo primário e quando da administração de Cloreto de Amônio.

Valores diminuídos são encontrados na falta de ingestão de sal, síndromes com excreção inadequada de ADH, vômito prolongado, diarreia intensa, acidose respiratória crônica, nefrites com perda de sal por deficiência de reabsorção tubular e alcalose metabólica, entre outros. Na doença de Addison a concentração do íon é mantida, em geral, próxima ao normal, exceto no período de crise, quando os níveis de cloretos e de sódio podem cair significativamente.



CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 40 testes em amostras cujo teor de Cloretos situava-se no intervalo de 81,8 a 116,1 mmol/L. A comparação do kit de Cloretos Doles (Y) com um método de referência (X), deu origem à seguinte equação de regressão linear: $Y = 1,003X - 0,97$.

O coeficiente de correlação é de 0,98.

Adição do íon cloreto a soros cujos níveis de cloro situavam-se entre 90 e 108mmol/L, mostrou o índice de recuperação situado entre 96,5 e 101,5%.

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

	Amostra 1
Concentração (mmol/L)	101,8
Desvio padrão	1,82
Coefficiente de variação (%)	1,79

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

	Amostra 1
Concentração (mmol/L)	101,36
Desvio padrão	2,51
Coefficiente de variação (%)	2,48 -

Especificidade: a presente metodologia é específica para determinação de cloretos no soro, plasma e líquido. A quantidade de brometo normalmente presente no sangue não é detectável por esse método, contudo, na terapêutica com brometo ou na intoxicação, a quantidade pode ser significativa. Nesses casos, detecta-se o brometo, que será calculado como cloreto.

Sensibilidade: a absorvância encontrada, de 0,002, corresponde a 1mmol/L de concentração de Cloretos, quando realizados os testes em espectrofotômetro, a 510nm, com banda espectral de 7nm e cubetas com passagem de 10mm. A sensibilidade do sistema está estritamente relacionada com a sensibilidade do aparelho utilizado no laboratório.

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

Substâncias interferentes: não usar amostras hemolizadas, ictericas e lipêmicas. O soro ou plasma deve ser separado rapidamente para evitar a passagem do íon cloro para as hemácias. Certas drogas podem interferir na dosagem de cloretos. Para controle de tal interferência, recomenda-se que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos (ver em limitações do sistema).

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Zall, D.M.; Fisher, D.; Gamer, M.O.: Photometric determination of chlorides in water. *Analyt. Chem.*, vol. 28, n° 11, 1665-1668; 1956.
- Kaplan L.A.; Pesce A. J.: *Química clínica métodos*; 90-95; 1990.
- Burtis A.C.; Ashwood E.R.; Tietz textbook clinical chemistry, 2ª edição, 1366-1370, 1994.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle Interno da Qualidade Analítica*, 1ªed. março/1995.
- Henry, J.B.: *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*, 149-150, 1456, 1451, 1463, 19ª edição, 1996.
- Jacobs D.S.; Kasten B.L.; Demott; Wolfson W.L.: *Laboratory test handbook*, 4ª edição, 108-110; 1996.
- Pagana K.D.: *Mosby's diagnostic and laboratory test reference*, 179-182, 1992.
- 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
e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810054

Revisão: 16 (07/2009)

NBR ISO 9001

Sistema da Qualidade certificado desde 1999

