



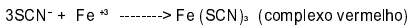
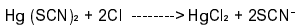
QUIMICLORO – Cloretos Tiocianato de Mercúrio

Finalidade:

Reação colorimétrica para determinação quantitativa de cloro em amostras de soro, plasma, urina e liquor humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

O íon cloreto desloca o tiocianato para formar cloreto mercúrico e íons tiocianato. Os íons tiocianato liberados reagem com os íons férricos para formar um complexo de cor que absorvem a luz a 500 nm. A intensidade da cor produzida é diretamente proporcional à concentração de cloreto na amostra. Temos então a seguinte reação:



Metodologia:

Tiocianato de Mercúrio

Significado Clínico:

Os cloretos e bicarbonatos são os principais ânions no sangue; sódio e potássio são os principais cátions. Os cloretos raramente funcionam por si mesmos, normalmente são feitos em conjunto com outros eletrólitos e são usados como apoio para a interpretação de outros eletrólitos. O balanço entre estes eletrólitos está frequentemente afetado por estados de doença. Um déficit de ânions pode ser calculado como $(\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + \text{HCO}_3)$. Aumentos nos níveis de cloreto podem ser encontrados em nefrites, obstrução prostática, eclampsia e desidratação. Diminuição dos níveis podem ser encontrados em afecções gastrointestinais ou de função renal.

Reagentes:

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 15-30 °C. Contém: Nitrato Mercúrio 0,105 mmol/L, Tiocianato de Mercúrio 1,01mmol/L e Nitrato Férrico 37,63 mmol/L e azida sódica como conservante 0,01% e pH < 2,0.

Padrão: Conservar entre 15 - 30°C. Solução aquosa com concentração de cloreto rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar todo o contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante (0,01%). Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco o que indica contaminação do reagente.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 500 nm (460 - 550nm).
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Soros controle.
6. Medidor de tempo.

Amostra:

Soro, plasma (EDTA, oxalato, citrato, heparina) e urina. É recomendável soro livre de hemólise, pois pode criar resultados falsamente elevados. É aconselhável que o soro ou o plasma seja o mais rápido possível separado do coágulo para evitar a passagem de íons cloretos para as hemácias. O cloreto no soro é estável por 1 dia se mantido a temperatura ambiente. A amostra poderá ser congelada (-20°C) por 3 meses quando vedada. Urina: deve-se utilizar amostras colhidas dentro 24 horas, sem conservantes e centrifugadas. É necessário uma diluição de 1:2 da urina antes da análise. Liquor: Utilizar o sobrenadante da amostra centrifugada. O cloreto no soro, plasma, na urina e no liquor é estável por 5 dias

entre 2 - 8°C.

Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica

Interferências:

Não usar soro hemolisado.

Fluoreto pode produzir resultados falsamente diminuídos.

Contaminação da vidraria com cloro afetará os resultados dos testes. Vidros lavados com ácido ou tubos de ensaio de plástico são recomendados.

Bilirrubina \geq 35 mg/dL, hemoglobina \geq 180 mg/dL e triglicérides \geq 1800 mg/dL, podem interferir no resultado

Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do Cloro, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 500 nm (460 - 550nm).
Tipo de Reação: Ponto final
Direção: Crescente
Relação Amostra/Reativo: 1:200
Vol. Amostra: 5 µL
Vol. Reagente: 1,0 mL
Tempo de Incubação: 5 minutos

Calibração:

Utilizar o padrão específico para Cloro que acompanha o Kit. A concentração de cloreto é rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI (National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente. Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	5 µL	-	-
Padrão	-	5 µL	-
Amostra/S.C.	-	-	5 µL
Reagente	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 5 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

3. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 500 nm (460 - 550nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

Nota: a cor final é estável por 30 minutos.

* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0,005 mL (5µL) de amostra a 1,0mL de solução salina, homogeneize e ler a absorbância contra água. Subtraia este valor da absorbância do paciente para obter a leitura corrigida. Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste.

Cálculos:

(Abs. = Absorbância)
(Conc. = Concentração)

$$\text{Cloreto da Amostra (mmol/L)} = \frac{\text{Abs. Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{Conc. do Padrão (mmol/L)}$$

Cálculo para Urina de 24 horas:
Urina: Cloreto Amostra (mmol/L) X fator diluição X Volume 24h (L)

obs: mEq/L = mmol/L x 1,0

Exemplo:

Abs. da amostra = 0,450
Abs. do padrão = 0,550
Conc. do padrão = 100 mmol/L
Volume urinário 24 hs = 1,25 L
Obs: mEq/L = mmol/L x 1,0

Cloreto Amostra = $(0,450 / 0,550) \times 100$
Cloreto Amostra = 82 mmol/L

Cloreto na Urina = $82 \times 2 \times 1,25$
Cloreto na Urina = 205 mmol/24hs

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 150 mmol/L. Amostras com valores superiores a 150 mmol/L devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 70 e 150 mmol/L e os

resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

Valores Esperados:

Soro: 98 - 106 mmol/L
Urina: 170 - 254 mmol/24horas
Liquor: 118 - 132 mmol/L

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar, produziram os seguintes resultados estatísticos:
Número de Amostras: 30
Intervalo dos resultados: 94 - 110 mmol/L
Coeficiente de Correlação: 0,991
Inclinação: 1,01
Intercepta: 0,11 (mmol/L)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mmol/L)	97	111
D.P. (mmol/L)	0,9	1,2
C.V. (%)	0,9	1,1

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mmol/L)	97	109
D.P. (mmol/L)	1,4	1,6
C.V. (%)	1,4	1,5

Sensibilidade Metodológica:

70,0 mmol/L

Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade \geq 1 mega ohm ou condutividade \leq 1 microsiemens e concentração de silicatos < 0,1 mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade \geq 1,0 megahms ou condutividade \leq 10 microsiemens. No enxágue final utilizar água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 7 x 15mL + 1 x 1,0mL
Linha Hitachi 917: 2 x 65mL + 1 x 1,0mL
Linha SAT 450: 2 x 45mL + 1 x 1,0mL
Linha Bulk: 1 x 200mL + 1 x 1,0mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com.

Referência Bibliográfica:

1. Volhard, J.Z. Anal. Chem. 17:482 (1878)
2. Van Slyke, D.D. Biol. Chem. 58:523 (1923).
3. Schales, O. and Schales, S.S. J. Biol. Chem. 140:879 (1941)
4. Schales, O. Standard Methods of Clinical Chemistry, Vol. 1 New York, Academic Press, p.p. 37-43 (1953)
5. Collove, E. et al. J. Lab. Clin. Med. 51:461 (1958)
6. Zell, D.M. et al. Anal. Chem., 28 :1665 (1956)
7. Skeggs, L.T. Jr. Hochstrasser, H., Clin. Chem. 10:918 (1964)
8. Arquivos da EBRAM

