

Determinazione del Cloro nel siero, plasma. Metodo colorimetrico (Tiocianato di Mercurio).

REF CC1070 R1: 4x60 mL + R2:1x3 mL (standard) - **BT-CC1070** R1: 5x50 mL - **IT1070** R1: 10x20 mL

PRINCIPIO DEL METODO

Gli ioni Cloro reagiscono con ioni mercurici liberando quantità equivalente di ioni tiocianato che, in presenza di ferro trivalente, formano un complesso di tiocianato ferrico di colore rosso. L'intensità di colore sviluppato dal complesso, misurabile fotometricamente a 480 nm, è direttamente proporzionale alla quantità di Cloro presente nel campione.

SIGNIFICATO CLINICO

Si tratta del principale anione inorganico del liquido extracellulare ed è estremamente importante per la regolazione ed il mantenimento dell'equilibrio idro-elettrolitico, dell'equilibrio acido-base e di una normale osmolarità. I succhi gastrici contengono una quantità abbondante di cloro, in particolare per la presenza di acido cloridrico, che gioca un ruolo essenziale nella digestione delle proteine e nella difesa dai batteri che sono introdotti con gli alimenti. Si ha ipocloremia in diverse situazioni quali sudorazione abbondante (minatori, addetti a lavorazioni di fusione), vomito e diarrea eccessiva e prolungata, aspirazione gastrica, abuso di lassativi, ustioni estese, stati allergici, eccessivo trattamento con diuretici, chetoacidosi diabetica, alcalosi metabolica, intossicazione da acqua.

Si ha ipercloremia in caso di insufficienza renale, disidratazione marcata, sindrome nefrosica, intossicazione da salicilati, intossicazione da cloruro di ammonio, acidosi tubulare renale, acidosi metabolica da diarrea (perdita di HCO₃⁻). Le variazioni di cloremia nel siero sono in genere parallele a quelle della sodiemia. Un sovradosaggio cronico di cloro, poiché tende ad accompagnarsi ad un eccessivo introito di sodio, può favorire l'insorgenza dell'ipertensione.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Reagente R1:

Mercurio Tiocianato	2 mmol/L
Cloruro di Mercurio	0.8 mmol/L
Nitrato Ferrico	20 mmol/L
Acido Nitrico	28 mmol/L

Reagente R2

Standard (Cloro)	Valore riportato in etichetta
------------------	-------------------------------

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati oppure Assorbanza del Bianco Reagente >0,15 in cuvetta da 1 cm ed alla lunghezza d'onda di 480 nm.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riporli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero, Plasma da eparina (evitare EDTA).

Il sudore e la saliva contengono cloruri, evitare di pipettare con la bocca e ogni casuale contatto delle mani con puntali e provette.

Eliminare i campioni contaminati o emolisati.

Stabilità nel siero:

Separare il siero dal coagulo nel più breve tempo possibile

3 mesi at -20°C. ; 7 giorni a 4° - 8° C ; 14 giorni a 20° - 25° C.

PROCEDURA

Lunghezza d'onda: 480 nm (440 - 500 nm)

Temperatura: 37° C

Misura: contro Bianco Reagente

Pipettare come segue:

Reagente R1	1000 µL
Campione, Std / Cal	10 µL

Miscelare, incubare 5' e leggere l'Assorbanza contro il Bianco Reagente entro 30'.

CALCOLO

$$\text{Cloro} = \frac{\text{Abs Campione}}{\text{Abs Std/Cal}} \times \text{Conc. Std/Cal}$$

Fattore di conversione: mmol/L x 1 = mEq/L

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa allo standard chimico presente nella confezione, è possibile usare il Calibratore di **MTD Diagnostics**:

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICI

Bambini	96 – 110 mmol/L
Adulti	95 – 105 mmol/L

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 75; D.S. = 1,3; CV = 1,7%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 120; D.S. = 1,7; CV = 1,4%

ACCURATEZZA: Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y=1,052x-3,1 \text{ con } r=0,993$$

SENSIBILITA': 5 mmol/L

LINEARITA': 5 – 130 mmol/L

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Nessuna interferenza è stata osservata con Acido Ascorbico fino a 30 mg/dL, Bilirubina fino a 20 mg/dL, Emoglobina fino a 500 mg/dL, Lipemia fino a 250 mg/dL di Trigliceridi.

NOTE

- Poiché il Cloro è uno ione ubiquitario, è necessario adottare precauzioni essenziali contro la contaminazione accidentale. Utilizzare solo materiali monouso.
- Questo metodo può essere utilizzato con diversi strumenti. Qualsiasi applicazione a uno strumento deve essere convalidata per dimostrare che i risultati soddisfano le caratteristiche di prestazione del metodo. Si consiglia di convalidare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio distributore per qualsiasi domanda sul metodo di applicazione.
- La diagnosi clinica non dovrebbe essere fatta sui risultati di un singolo risultato del test, ma dovrebbe integrare sia i dati clinici che quelli di laboratorio.

PRECAUZIONI

R1 contiene :

MERCURIO TIOCIANATO – 2 mmol/L - CAS 592-85-8 - T+ C N R26/27/28 (H301 – H331 – H311) R35 (H314) R50/53

COLORURO DI MERCURIO – 0.8 mmol/L – CAS 7487-94-7 - R28 (H301) R34 (H314) R48/24/25 (H372) R50/53 (H400 – H410)

NITRATO FERRICO – 20 mmol/L – CAS 7782-61-8 - Xi R28(H301) R36/37/38 (H319 – H335 – H315)

ACIDO NITRICO – 28 mmol/L – CAS 7697-37-2 - C R35 (H314)

H301 – Tossico se ingerito

H311 – Tossico per contatto con la pelle.

H314 – Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari

H315 – provoca irritazione cutanea

H331 – Tossico se inalato

H335 – Può irritare le vie respiratorie

H372 – Provoca danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta

H410 – Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata
EUH032 – A contatto con gli acidi libera gas molto tossici

Il prodotto contiene sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP), pertanto, esso necessita della etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE). Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
	Numero di catalogo		Scadenza
	Numero di lotto		Fabbricante

BIBLIOGRAFIA

Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 295-8.

Scott GS, Heusel JW, LeGrys VA, Siggard- Andersen O. Electrolytes and blood gases. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1056-94.

Schoenfeld RG, Lewellen CJ. A colorimetric method for determination of serum chloride. ClinChem 1964; 10:533-9.