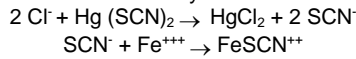


Quantitative determination of chloride ion IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

The quantitative displacement of thiocyanate by chloride from mercuric thiocyanate and subsequent formation of a red ferric thiocyanate complex is measured colorimetrically:



The intensity of the color formed is proportional to the chloride ion concentration in the sample^{1,2,3,4}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

It is important clinically the determination of chloride due regulation of osmotic pressure of extra cellular fluid and to its significant role in acid-base balance. Increases in chloride ion concentration may be found in severe dehydration, excessive intake of chloride, severe renal tubular damage and in patients with cystic fibrosis.

Decrease in chloride ion concentration may be found in metabolic acidosis, loss from prolonged vomiting and chronic pyelonephritis^{2,7,8}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R Thiocyanate-Hg	Mercuric thiocyanate	4 mmol/L
	Ferric nitrate	40 mmol/L
	Mercuric nitrate	2 mmol/L
	Nitric acid	45 mmol/L

PRECAUTIONS

R: H314-Causes severe skin burns and eye damage.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

The reagent is ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 505 nm \geq 0.15.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- SPIN 800 Autoanalyzer.
- General laboratory equipment (Note 1, 2, 3).

SAMPLES

- Serum or plasma free of hemolysis and separated from cells as rapidly as possible. Anticoagulants such as oxalate or EDTA are not acceptable they will interfere with results.
- Urine¹: Collect 24-hour urine specimen in chloride free containers. Dilute a sample 1/2 in distilled water. Mix. Multiply results by 2 (dilution factor).

Stability of the sample: Ion chloride is stable 1 week at room temperature (15-25°C), in refrigerator (2-8°C) or frozen (-20°C) temperatures.

QUALITY CONTROL

Control sera and calibrators are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINCONTROL H Calibrator, SPINCONTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002011, 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

BARCODED REAGENTS LOAD MUST BE PRECEDED OF A SPINREACT "DATABASE" COPY INTO THE ANALYZER SOFTWARE. IT IS AVAILABLE UNDER REQUEST TO SPINREACT.

SPIN 800 APPLICATION

EDIT PARAMETERS			
Test	CL	No.	**
Full name	CHLORIDE	Print name	CL
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	505	Sec. Wave.	
Unit	mmol/L	Decimal	0.01
Reagent Blank	3 - 4	React. Time	22 - 24
Vol. Sample	3 ul	Increas.	Decrease
			Sample blank
R1	300 ul	R2	R3
			R4
CALIBRATION			
Rule	Linear two points	Water	0
		Calibrator	*

The Calibration is stable until **31 days**. After this period the Calibration must be performed again in order to obtain good results.

REFERENCE VALUES¹

Serum or plasma:	95 - 115 mmol/L	CSF:	95 - 110 mmol/L
Urine:	110 - 250 mmol/24h	Sweat:	Up to 60 mmol/L

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From *detection limit* of 0,454 mmol/L to *linearity limit* of 190 mmol/L.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with distilled water and multiply the result by 2.

Precision:

Mean (mmol/L)	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	SD	CV (%)	82,5	111
	0,81	0,62	1,07	1,87
	0,96	0,55	1,30	1,68

Sensitivity: 1 mmol/L = 0,00471 A.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents did not show systematic differences when compared with other commercial reagents. The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0,96731.

Regression equation: y=0,990x + 0,100.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

BIBLIOGRAPHY

1. Miller W.G. Chloride. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1059-1062 and 417.
2. Ibbott F A. et al. New York Academic Press 1965: 101-111.
3. Schoenfeld R G et al. Clin Chem 1964 (10): 533-539.
4. Levinson S S. et al. In Faulkner WR et al editors. (9) AACC 1982: 143-148.
5. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
6. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
7. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
8. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref: MX1001360

Cont.

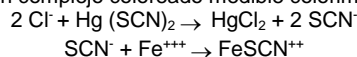
 R: 6 x 20 mL

Determinación cuantitativa de iones cloruro IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los iones cloruro de la muestra reaccionan con tiocianato de mercurio desplazando el ión tiocianato. El tiocianato libre en presencia de iones férricos forma un complejo coloreado medible colorimétricamente:



La intensidad del color es proporcional a la concentración de iones cloruro presente en la muestra ensayada^{1,2,3,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El control de la concentración de iones cloruro tiene gran interés clínico dada su importancia en el balance ácido-base y la regulación osmótica del fluido extracelular. Valores altos se relacionan con pérdidas excesivas de agua o alteraciones del flujo renal y fibrosis quística.

Valores bajos nos indican acidosis metabólica, trastornos gastrointestinales o alteración de los mecanismos renales^{2,7,8}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R Tiocianato -Hg	Tiocianato de mercurio	4 mmol/L
	Nitrato de hierro	40 mmol/L
	Nitrato de mercurio	2 mmol/L
	Ácido nítrico	45 mmol/L

PRECAUCIONES

R: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

El reactivo está listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 505 nm $\geq 0,15$.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador SPIN 800.
- Equipamiento habitual de laboratorio (Nota 1, 2, 3).

MUESTRAS

- Suero o plasma libre de hemólisis. Separado lo antes posible de los hematíes. No usar oxalato o EDTA como anticoagulantes ya que interfiere en los resultados.
- Orina¹: Efectuar la recogida de orina de 24 horas en recipientes libres de cloruros. Diluir la orina 1/2 en agua destilada para su análisis. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 2 (factor de dilución).

Estabilidad de la muestra: Los iones de cloruro son estables 1 semana a temperatura ambiente (15-25°C) o en nevera (2-8°C) o congelado (-20°C).

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente calibrar y analizar junto con las muestras sueros control y calibradores valorados: SPINTROL H Calibrador, SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002011, 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

PARA LA CARGA DE REACTIVOS MEDIANTE EL CÓDIGO DE BARRAS SE DEBE PRECARGAR LA "BASE DE DATOS" DISPONIBLE BAJO SOLICITUD A SPINREACT.

APLICACIÓN AL SPIN 800

EDIT PARAMETERS			
Test	CL	No.	**
Full name	CHLORIDE	Print name	CL
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	505	Sec. Wave.	
Unit	mmol/L	Decimal	0.01
Reagent Blank	3 - 4	React. Time	22 - 24
Vol. Sample	3 ul	Increas.	Decrease
			Sample blank
R1	300 ul	R2	R3
			R4
CALIBRATION			
Rule	Linear two points	Water	0
		Calibrator	*

La Calibración es estable hasta **31 días**. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo la Calibración para la obtención de buenos resultados.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:	95 - 115 mmol/L	LCR:	95 - 110 mmol/L
Orina:	110 - 250 mmol/24h	Sudor:	Hasta 60 mmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,454 mmol/L hasta el *límite de linealidad* de 190 mmol/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con agua destilada y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (mmol/L)	84,2	114	82,5	111
SD	0,81	0,62	1,07	1,87
CV (%)	0,96	0,55	1,30	1,68

Sensibilidad analítica: 1 mmol/L = 0,00471 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,96731.

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0,990x + 0,100$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Miller W.G. Chloride. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1059-1062 and 417.
2. Ibbott F A. et al. New York Academic Press 1965: 101-111.
3. Schoenfeld R G et al. Clin Chem 1964 (10): 533-539.
4. Levinson S S. et al. In Faulkner WR et al editors. (9) AACC 1982: 143-148.
5. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
6. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
7. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
8. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: MX1001360

 Cont.

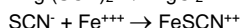
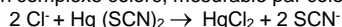
R: 6 x 20 mL

Détermination quantitative d'ions chlorure IVD

A conserver entre 2-8°C

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les ions chlorure de l'échantillon réagissent avec le thiocyanate de mercure en déplaçant l'ion thiocyanate. Le thiocyanate libre, en présence d'ions ferriques, forme un complexe coloré, mesurable par colorimétrie :



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en ions chlorure présente dans l'échantillon testé^{1,2,3,4}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le contrôle de la concentration en ions chlorure présente un grand intérêt clinique, en raison de leur importance dans l'équilibre acido-basique et la régulation osmotique du fluide extracellulaire. Des valeurs élevées sont associées aux pertes excessives d'eau ou des modifications du débit sanguin rénal et de la fibrose kystique.

Des valeurs faibles nous indiquent une acidose métabolique, des troubles gastro-intestinaux ou une altération des mécanismes rénaux^{2,7,8}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

RÉACTIFS

R (Remarque 4)	Thiocyanate de mercure	4 mmol/L
Thiocyanate de mercure	Nitrate de fer	40 mmol/L
	Nitrate de mercure	2 mmol/L
	Acide nitrique	45 mmol/L

PRÉCAUTIONS

R: H314-Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PRÉPARATION

Le réactif et l'étalon sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Toutes les composantes du kit sont stables jusqu'à l'expiration de la date mentionnée sur l'étiquette en cas de conservation hermétique sous 2-8°C et de protection contre la lumière et les contaminations évitées lors de leur utilisation.

Indicateurs de détérioration des réactifs :

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du témoin à 480 nm $\geq 0,15$.

ÉQUIPEMENTS SUPPLÉMENTAIRES

- Spectrophotomètre ou colorimètre mesurant 480 nm.
- Cuves appariées de 1,0 cm de raie spectrale.
- Équipement d'usage général pour laboratoire (Remarque 2,3).

ÉCHANTILLONS

- Sérum, plasma, Exempt d'hémolyse. Séparé le plus tôt possible des hématies. Ne pas utiliser d'oxalate ou d'EDTA comme anticoagulant, en raison de leur interférence avec les résultats.
- Urine¹: Effectuer la collecte d'urine de 24 heures dans des récipients exempts de chlorures. Diluer un volume d'urine dans deux d'eau distillée pour l'analyser. Mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 2 (facteur de dilution).

Stabilité de l'échantillon : Les ions de chlorure sont stables 1 semaine à température ambiante (15-25°C), ou 15 jours dans un réfrigérateur (2-8°C) ou 1 mois dans un congélateur (-20°C).

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'analyser des sérums de contrôle estimés en même temps que les échantillons : SPINROL H normal et pathologique (réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs de contrôle se trouvent en dehors de la gamme définie, veuillez vérifier l'instrument, le réactif et matériel d'étalonnage.

Chaque laboratoire doit établir son propre système de contrôle de qualité et des actions correctives au cas où les contrôles n'atteignent pas les tolérances acceptables.

POUR TRAVAILLER AVEC CODES A BARRES, IL FAUT CHARGER LA BASE DE DONNÉES QUE VOUS DEVEZ SOLLICITER PRÉALABLEMENT A SPINREACT.

APPLICATION AU SPIN 800

EDIT PARAMETERS			
Test	CL	No.	**
Full name	CHLORIDE	Print name	CL
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	505	Sec. Wave.	
Unit	mmol/L	Decimal	0.01
Reagent Blank	3 - 4	React. Time	22 - 24
Vol. Sample	3 ul	Decrease	Sample blank
R1	300 ul	R2	R3 R4
CALIBRATION			
Rule	Linear two points	Water	0
		Calibrator	*

L'étalonnage est stable jusqu'à **31 jours**. Passé ce délai, doit étalonner de nouveau pour obtenir de bons résultats.

VALEURS DE RÉFÉRENCE ¹

Sérum ou plasma :	95 - 115 mmol/L
Urine :	110 - 250 mmol/24h

Ces valeurs sont juste indicatives; chaque laboratoire doit établir sa propre gamme de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Gamme de mesure : de la limite de la détection de 0,454 mmol/L à la limite de linéarité de 190 mmol/L.

Si les résultats obtenus sont plus élevés que la limite de linéarité, il faut diluer 1/2 de l'échantillon avec l'eau distillée et multiplier le résultat par 2.

Précision:

	Intra-essai (n=20)		Inter-essai (n=20)	
	84,2	114	82,5	111
Moyenne (mmol/L)	0,81	0,62	1,07	1,87
SD	0,96	0,55	1,30	1,68
CV (%)				

Sensibilité analytique: 1 mmol/L = 0,00471 A.

Exactitude: les résultats obtenus en utilisant les réactifs SPINREACT n'ont pas présenté de différences systématiques en comparaison avec d'autres réactifs commerciaux.

Les résultats obtenus sur 50 échantillons ont été les suivants :

Coefficient de régression (r)²: 0,96731.

Équation de la droite de régression : y=0,990x + 0,100.

Les résultats des caractéristiques de la méthode dépendent de l'analyseur utilisé.

BIBLIOGRAPHIE

1. Miller W.G. Chloride. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1059-1062 and 417.
2. Ibbott F A. et al. New York Academic Press 1965: 101-111.
3. Schoenfeld R G et al. Clin Chem 1964 (10): 533-539.
4. Levinson S S. et al. In Faulkner WR et al editors. (9) AACC 1982: 143-148.
5. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
6. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
7. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
8. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRÉSENTATION

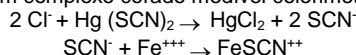
Ref: MX1001360 Cont. R: 6 x 20 mL

Determinação quantitativa de íons cloreto IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os íons cloreto da amostra reagem com o tiocianato de mercúrio deslocando o íon tiocianato. O tiocianato livre, na presença de íons férricos forma um complexo corado medível colorimetricamente:



A intensidade da coloração é proporcional à concentração de íons cloreto presentes na amostra testada^{1,2,3,4}.

SIGNIFICADO CLÍNICO

O controlo da concentração de íons cloreto tem grande interesse clínico dada a sua importância no equilíbrio ácido-base e na regulação osmótica do fluido extracelular. Valores elevados estão relacionados com perdas excessivas de água ou alterações do fluxo renal e fibrose quística.

Valores baixos indicam-nos acidose metabólica, perturbações gastro-intestinais ou alteração dos mecanismos renais^{2,7,8}.

O diagnóstico clínico deve realizar-se tendo em conta todos os dados clínicos e de laboratório.

REAGENTES

R	Tiocianato de mercúrio	4 mmol/L	
	Nitrato de ferro	40 mmol/L	
	Tiocianato -Hg	Nitrato de mercúrio	2 mmol/L
		Ácido nítrico	45 mmol/L

PRECAUÇÕES

R: H314-Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

PREPARAÇÃO

O reagente está pronto a ser utilizado.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis, até à data de validade indicada no rótulo, quando os frascos são mantidos bem fechados, a 2-8°C, protegidos da luz e se evita a sua contaminação. Não usar o reagente depois da data indicada.

Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.
- Absorvância (A) do Branco a 505 nm $\geq 0,15$.

MATERIAL ADICIONAL

- Auto-analisador SPIN 800.
- Equipamento habitual de laboratório (Nota 1, 2, 3).

AMOSTRAS

- Soro, plasma, LCR, suor e outros fluidos^{1,2}: Livre de hemólise. Separar o mais rapidamente possível das hemácias. Não usar oxalato ou EDTA como anticoagulantes já que interfere nos resultados.
- Urina¹: Efectuar a recolha de urina de 24 horas em recipientes livres de cloretos. Diluir a urina 1/2 em água destilada para análise. Misturar. Multiplicar o resultado obtido por 2 (factor de diluição).

Estabilidade da amostra: Os íons de cloreto são estáveis, 1 semana à temperatura ambiente (15-25°C) ou no frigorífico (2-8°C) ou no congelador (-20°C).

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente calibrar e analisar juntamente com as amostras, os soros controlo e calibradores padronizados: SPINTROL H Calibrador, SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002011, 1002120 e 1002210).

Se os valores determinados se encontrarem fora do intervalo de tolerância, rever o instrumento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correcções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

PARA CARREGAR REAGENTES POR CODIGO DE BARRAS DEVE PRÉ-CARREGAR O "BANCO DE DADOS" DISPONÍVEL MEDIANTE ORDEM A SPINREACT.

APLICAÇÃO AO SPIN 800

EDIT PARAMETERS			
Test	CL	No.	**
Full name	CHLORIDE	Print name	CL
Reac. Type	End Point	Direction	Increase
Pri. Wave.	505	Sec. Wave.	
Unit	mmol/L	Decimal	0.01
Reagent Blank	3 - 4	React. Time	22 - 24
Vol. Sample	3 ul	Decrease	Sample blank
R1	300 ul	R2	R3
			R4
CALIBRATION			
Rule	Linear two points	Water	0
		Calibrator	*

Calibração pelo branco de reagente é estável até **31 dias**. Após este período, é necessário voltar a aplicar o reagente em branco para validar a calibração.

VALORES DE REFERÊNCIA¹

Soro ou plasma:	95 - 115 mmol/L	LCR:	95 - 110 mmol/L
Urina:	110 - 250 mmol/24h	Suor:	Até 60 mmol/L

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medição: Do limite de detecção de 0,454 mmol/L até ao limite de linearidade de 190 mmol/L.

Se os resultados obtidos forem superiores ao limite de linearidade, diluir a amostra 1/2 com água destilada e multiplicar o resultado por 2.

Precisão:

Média (mmol/L)	Intra-ensaios (n=20)		Intra-ensaios (n=20)	
	84,2	114	82,5	111
SD	0,81	0,62	1,07	1,87
CV (%)	0,96	0,55	1,30	1,68

Sensibilidade: 1 mmol/L = 0,00471 A.

Exactitude: Os resultados obtidos utilizando reagentes SPINREACT (y) não demonstraram diferenças sistemáticas quando comparados com outros reagentes comerciais.

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de regressão (r)²: 0,96731.

Equação da recta de regressão: y=0,990x + 0,100.

Os resultados das características de desempenho dependem do analisador utilizado.

BIBLIOGRAFIA

1. Miller W.G. Chloride. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1059-1062 and 417.
2. Ibbott F A. et al. New York Academic Press 1965: 101-111.
3. Schoenfeld R G et al. Clin Chem 1964 (10): 533-539.
4. Levinson S S. et al. In Faulkner WR et al editors. (9) AACC 1982: 143-148.
5. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
6. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
7. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
8. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

APRESENTAÇÃO

Ref: MX1001360

Cont.

6 x 20 mL