

Para utilizar no diagnóstico *in vitro***REVISÃO ANUAL**

Revisto por:	Data	Revisto por:	Data

PRINCÍPIO**APLICAÇÃO**

O reagente de TBIL, quando utilizado em conjunto com o Sistemas SYNCHRON CX® e o SYNCHRON® Systems Bilirubin Calibrador, destina-se a ser usado na determinação quantitativa da concentração de Bilirrubina Total (TBIL) em soro ou plasma humanos.

SIGNIFICADO CLÍNICO

As determinações de bilirrubina são utilizadas no diagnóstico e tratamento de doenças hepáticas hemolíticas, hematológicas e metabólicas, incluindo hepatite e bloqueio da vesícula biliar.

METODOLOGIA

O reagente de TBIL é utilizado para determinar a concentração de bilirrubina total através de um método diazo de ponto final de tempo fixo.^{1,2,3} Na reacção, a bilirrubina reage com o reagente diazo na presença de cafeína, benzoato e acetato como aceleradores para formar azobilirrubina.

O Sistemas SYNCHRON CX® distribui automaticamente a amostra e os volumes de reagente apropriados numa cuvete. A razão usada é uma parte de amostra para 35 partes de reagente. O sistema monitoriza a alteração da absorvância a 520 nanómetros. A variação de absorvância é directamente proporcional à concentração de TBIL na amostra e é utilizada pelo Sistema para calcular e exprimir essa concentração.

ESQUEMA DA REACÇÃO QUÍMICA

PT015257L.EPS

AMOSTRA**TIPO DE AMOSTRA**

As amostras de líquidos biológicos devem ser colhidas de acordo com o procedimento de rotina usado em qualquer teste laboratorial.⁴ Soro ou plasma de colheita recente são as amostras de eleição. Os anticoagulantes aceitáveis são

indicados na secção NOTAS SOBRE PROCEDIMENTOS desta ficha de informação química. Não é recomendável utilizar sangue total ou urina como amostra.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DA AMOSTRA

1. Os tubos de sangue devem estar sempre fechados e em posição vertical. É aconselhável separar fisicamente o soro ou o plasma do contacto com células, no período de duas horas após a colheita.⁵
2. O soro ou plasma separados não devem permanecer à temperatura ambiente durante mais de 8 horas. Se os ensaios não forem concluídos num período de 8 horas, o soro ou plasma devem ser armazenados entre +2°C e +8°C. Se os ensaios não forem concluídos num período de 48 horas, ou se a amostra separada tiver de ser armazenada durante mais de 48 horas, as amostras devem ser congeladas a uma temperatura entre -15°C e -20°C. As amostras congeladas devem ser descongeladas apenas uma vez. Poderá ocorrer deterioração do analito em amostras repetidamente submetidas a congelação e descongelação.⁵
3. A bilirrubina é fotossensível. Proteja as amostras da luz

Condições adicionais de armazenamento e estabilidade das amostras, designadas por este laboratório:

VOLUME DE AMOSTRA

Um copo de amostra com 0,5 mL é o volume óptimo. Para identificar o volume óptimo em amostras de tubos primários, consulte o Modelo Gráfico de Tubos Primários de Amostras (P/N 248511) para obter informações sobre os requisitos mínimos de volume.

CRITÉRIOS PARA REJEIÇÃO DE AMOSTRAS

Consulte a secção de NOTAS DE PROCEDIMENTO desta ficha de informação química, para obter informação acerca de amostras inaceitáveis.

Critérios de rejeição da amostra estabelecidos por este laboratório:

PREPARAÇÃO DO DOENTE

Instruções especiais para preparação de amostras de doentes, definidas por este laboratório:

MANUSEAMENTO DAS AMOSTRAS

Instruções especiais para manuseamento de amostras, definidas por este laboratório:



REAGENTES

CONTEÚDO

Cada conjunto contém os seguintes elementos:

Dois cartuchos de reagente para bilirrubina total (2 x 300 testes) ou (2 x 400 testes)
Um Folheto de Instruções para Preparação

VOLUMES POR TESTE

Volume da amostra	8 µL
Volume Total de Reagente	280 µL
Volumes dos Cartuchos	
A	255 µL
B	25 µL
C	--

INGREDIENTES REACTIVOS

CONSTITUINTES DO REAGENTE

Benzoato de sódio	347 mmol/L
Cafeína	173,9 mmol/L
Ácido sulfanílico	27 mmol/L
HCl	50 mmol/L
Nitrito de sódio	0,36 mmol/L
Acetato de sódio	609 mmol/L

Contém também componentes químicos não reactivos necessários para um desempenho óptimo do sistema.

CLASSIFICAÇÃO EUROPEIA DE PERIGOSIDADE

Reagente para bilirrubina total (Compartimento B)	C;R35	Provoca queimaduras graves.
	S26	Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.
	S45	Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente o médico (se possível mostrar-lhe o rótulo).
Reagente para bilirrubina total (Compartimento C)	T;R25	Tóxico por ingestão.
	S45	Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente o médico (se possível mostrar-lhe o rótulo).

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS COM O CONJUNTO DE REAGENTES

SYNCHRON® Systems Bilirubin Calibrador
Pelo menos dois níveis de material de controlo
Albumina do soro humano (isenta de azida)

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Para P/N 442745 (300 testes): Transfira quantitativamente 100 microlitros (0,1 ml) do conteúdo do compartimento mais pequeno (C) para o compartimento central (B).

Para P/N 476861 (400 testes): Transfira quantitativamente 200 µl (0,2 ml) do conteúdo do compartimento mais pequeno (C) para o compartimento central (B).

Coloque novamente as tampas dos cartuchos e inverta os cartuchos **suavemente**, várias vezes, para misturar devidamente. Para uma calibração bem sucedida, é necessário misturar bem.

DESEMPENHO ACEITÁVEL DO REAGENTE

A aceitabilidade de um reagente é determinada pela calibração bem sucedida e pela garantia de que os resultados do controlo de qualidade se situam dentro dos critérios de aceitação da instalação.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DO REAGENTE

O reagente de TBIL terá a duração indicada no rótulo do cartucho, desde que seja armazenado por abrir, à temperatura ambiente. Depois de preparado, o cartucho de reagente é estável durante 30 dias, entre +2°C e +8°C, desde que o prazo de validade não seja ultrapassado. **NÃO CONGELAR.**

Local de armazenamento do reagente:

CALIBRAÇÃO

CALIBRADOR NECESSÁRIO

SYNCHRON® Systems Bilirubin Calibrador

PREPARAÇÃO DO CALIBRADOR

Não requer preparação.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DO CALIBRADOR

O SYNCHRON® Systems Bilirubin Calibrador por abrir pode ser armazenado entre -15°C e -20°C, até ao fim do prazo de validade impresso no respectivo frasco. Os calibradores abertos que são novamente fechados e armazenados entre +2°C e +8°C permanecerão estáveis durante 24 horas, desde que o prazo de validade não seja ultrapassado.

CUIDADO

Este produto é de origem humana, pelo que deve ser manuseado como potencial transmissor de doenças infecciosas. Todas as unidades de soro ou plasma provenientes de doadores e utilizadas na preparação deste material foram testadas por métodos aprovados pela FDA (United States Food and Drug Administration), não tendo sido detectada a presença de anticorpos contra o VIH e o VHC, nem reactividade para o antigénio de superfície do vírus da hepatite B (HbsAg). Dado que nenhum método de teste pode oferecer total garantia de que os vírus HIV, da hepatite B e da hepatite C ou outros agentes infecciosos não estão presentes, este material e todas as amostras de doentes devem ser manuseados como potenciais transmissores de doenças infecciosas. Este produto pode também conter outros materiais de origem humana para os quais não existe teste aprovado. A FDA recomenda que tais amostras sejam manuseadas conforme especificado nas orientações do Nível 2 de Segurança Biológica dos Centros de Controlo de Doenças.⁶

Local de armazenamento do calibrador:

INFORMAÇÃO SOBRE O CALIBRADOR

AVISO

A Bilirrubina Total é um parâmetro bioquímico calibrado e requer a preparação "quantitativa" de reagente, pelo que é importante seguir os procedimentos adequados de manuseamento, preparação e armazenamento de reagentes, especialmente quando se utilizar a característica de calibração intra-lote. Antes de reportar os resultados do doente em sucessivos cartuchos intra-lote, efectue sempre uma análise e revisão dos dados de calibração e de controlo de qualidade.

1. É necessário introduzir na memória do sistema uma curva de calibração válida, antes de analisar os controlos ou as amostras dos doentes.

2. Em condições normais de funcionamento, o cartucho de reagente para TBIL deve ser calibrado em cada período de 14 dias, assim como após determinados procedimentos de substituição de componentes ou de manutenção, conforme definido no *Manual de Utilização* do SYNCHRON CX. Este ensaio dispõe de calibração intra-lote. Para mais informações sobre esta função, consulte a Secção 6 do *Manual de Utilização* do SYNCHRON CX.
3. Para mais instruções sobre calibração, consulte a Secção 6 do *Manual de Utilização* (Operating Instructions) do SYNCHRON CX.
4. O sistema efectuará, automaticamente, verificações da calibração e produzirá dados no final da calibração. Se a calibração não for bem sucedida, os dados serão impressos com códigos de erro e o sistema alertará o operador da ocorrência. O Apêndice G da Secção 10 do *Manual de Utilização* (Operating Instructions) do SYNCHRON CX inclui uma explicação destes códigos de erro.

RASTREABILIDADE

Para obter informações sobre rastreabilidade, consulte as instruções de utilização do calibrador.

CONTROLO DE QUALIDADE

Pelo menos dois níveis de material de controlo devem ser analisados diariamente. Além disso, estes controlos devem ser analisados para cada nova calibração, para cada novo cartucho de reagente, bem como após determinados procedimentos de manutenção ou resolução de problemas, conforme descrito no *Manual de Utilização* (Operating Instructions) do SYNCHRON CX. Fica ao critério do utilizador recorrer, com maior frequência, à utilização dos controlos ou ao uso de controlos adicionais, com base no volume e fluxo de trabalho.

Os controlos seguintes devem ser preparados e utilizados de acordo com os folhetos informativos. Os resultados de controlo de qualidade discrepantes deve ser avaliados nas vossas instalações.

Quadro 1.0 Material de controlo de qualidade

NOME DE CONTROLO	TIPO DE AMOSTRA	ARMAZENAMENTO

PROCEDIMENTO(S) DE TESTE

AVISO

Quando utilizar a função de calibração intra-lote, recomenda-se vivamente que a recuperação seja confirmada em cartucho(s) subsequente(s) com o mesmo número de lote, analisando o material de controlo de qualidade antes de analisar ou reportar quaisquer resultados dos doentes.

1. Se necessário, prepare o cartucho de reagente conforme descrito na secção Preparação do Reagente desta ficha de informação química e carregue o reagente no sistema conforme indicado na Secção 6 do *Manual de Utilização* (Operating Instructions) do SYNCHRON CX.
2. Uma vez terminado o carregamento do reagente, poderá ser necessário efectuar a calibração. Para mais informações sobre o procedimento de calibração, consulte a Secção 6 do *Manual de Utilização* (Operating Instructions) do SYNCHRON CX.

3. Programe as amostras e os controlos para análise, conforme as instruções da Secção 6 do *Manual de Utilização* (Operating Instructions) do SYNCHRON CX.
4. Depois de colocar as amostras e controlos no sistema, siga os protocolos de funcionamento do sistema, conforme descritos na Secção 6 do *Manual de Utilização* (Operating Instructions) do SYNCHRON CX.

CÁLCULOS

O sistema realiza todos os cálculos internamente, para produzir o resultado final apresentado. Os Sistemas SYNCHRON CX4/5 não calculam o resultado final para diluições de amostras efectuadas pelo operador. Nestes casos, o instrumento terá de multiplicar o resultado produzido pelo factor de diluição, antes de apresentar o resultado final. Os Sistemas SYNCHRON CX4CE/5CE/7 (incluindo os Sistemas CX DELTA e CX PRO) calcularão o resultado final para diluições de amostras efectuadas pelo operador, se o factor de diluição for introduzido no sistema durante a programação das amostras.

COMUNICAÇÃO DE RESULTADOS

INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos de referência, com base na respectiva população de doentes. Os intervalos de referência abaixo indicados foram obtidos a partir da bibliografia.⁷

Quadro 2.0 Intervalos de referência

INTERVALOS	TIPO DE AMOSTRA	UNIDADES CONVENCIONAIS	UNIDADES S.I.
Bibliografia	Soro ou plasma	0,2 – 1,0 mg/dL	3,4 – 17,1 µmol/L

INTERVALOS	TIPO DE AMOSTRA	UNIDADES CONVENCIONAIS	UNIDADES S.I.
Laboratório			

Consulte a bibliografia (8,9,10), para obter orientações sobre o estabelecimento de intervalos de referência específicos para cada laboratório.

Informações adicionais sobre comunicação de dados designadas por este laboratório:

NOTAS SOBRE PROCEDIMENTOS

RESULTADOS DO TESTE DE ANTICOAGULANTE

1. Se a amostra de eleição for de plasma, os seguintes anticoagulantes foram referenciados como compatíveis com este método, com base num estudo realizado com 20 voluntários saudáveis:

Quadro 3.0 Anticoagulantes Aceitáveis

ANTICOAGULANTE	NÍVEL TESTADO PARA DETECÇÃO DE INTERFERÊNCIAS IN VITRO	DESVIOS DE SORO-PLASMA MÉDIO (mg/dL) @ +37°C
Heparina sódica	29 Unidades/mL	NSI ^a
Heparina-lítio	29 Unidades/mL	NSI
Heparina amónio	29 Unidades/mL	NSI
EDTA	3,0 mg/mL	NSI

a NSI = Sem Interferência Significativa (dentro de $\pm 0,3$ mg/dL ou 6%).

2. Os seguintes anticoagulantes são incompatíveis com este método:

Quadro 4.0 Anticoagulantes incompatíveis

ANTICOAGULANTE	NÍVEL TESTADO PARA DETECÇÃO DE INTERFERÊNCIAS IN VITRO	DESVIO PLASMA-SORO (mg/dL) @ +37°C ^a
Citrato de sódio	1,7 mg/mL	$\leq -0,8$
Oxalato de Potássio/Fluoreto de Sódio	4,0 / 5,0 mg/mL	$\leq -0,4$

a O desvio baseia-se no pior cenário, e não na média. Um sinal (+) ou (-) nesta coluna significa desvio positivo ou negativo.

LIMITAÇÕES

Nenhum identificado.

INTERFERÊNCIAS

1. As seguintes substâncias foram testadas com esta metodologia, para detectar a ocorrência de interferências:

Quadro 5.0 Interferências

SUBSTÂNCIA	FONTE	NÍVEL MÁXIMO TESTADO	EFEITO OBSERVADO ^a
Hemoglobina	Hemolisado de RBC	(1+) 100 mg/dL	$\leq +0,24$ mg/dL
Lipemia	Intralipid ^b	(2+) 200 mg/dL	$\leq -0,24$ mg/dL
Azida	NA ^c	5 mg/dL	$\leq +0,24$ mg/dL
Citrato	NA	900 mg/dL	$\leq \pm 0,20$ mg/dL
Oxalato	NA	1000 mg/dL	$\leq \pm 0,20$ mg/dL
Ácido gentísico	NA	5 mg/dL	$\leq +0,24$ mg/dL

a Um sinal (+) ou (-) nesta coluna significa interferência positiva ou negativa.

b Intralipid é uma marca comercial registada da KabiVitrum, Inc., Clayton, NC 27250.

c NA = Não aplicável.

2. As amostras lipémicas > 2+ devem ser ultracentrifugadas, devendo a análise ser realizada com o infranadante.
3. O metabolito de naproxeno, O-desmetil-naproxeno, demonstrou uma interferência positiva com o método Jendrassik-Grof para a medição de Bilirrubina total.¹¹

4. Consulte a bibliografia (12,13,14), para ver outro tipo de interferências causadas por fármacos, patologias e variáveis pré-analíticas.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

INTERVALO ANALÍTICO

O método Sistemas SYNCHRON CX[®] para determinação deste analito fornece o seguinte intervalo analítico:

Quadro 6.0 Intervalo analítico

TIPO DE AMOSTRA	UNIDADES CONVENCIONAIS	UNIDADES S.I.
Soro ou plasma	0,1 – 30,0 mg/dL	1,7 – 513,0 µmol/L

As amostras com concentrações que excedam o limite superior do intervalo analítico deverão ser confirmadas através da diluição de uma parte da amostra de valor conhecido com uma parte da amostra original do doente e reanalisadas. O factor de diluição apropriado deverá ser aplicado ao resultado incluído no relatório.

INTERVALO REPORTÁVEL (CONFORME DETERMINADO NO LOCAL):

Quadro 7.0 Intervalo reportável

TIPO DE AMOSTRA	UNIDADES CONVENCIONAIS	UNIDADES S.I.

EQUIVALÊNCIA

A equivalência relativamente a métodos clínicos aprovados foi avaliada através da análise de regressão de Deming das amostras dos doentes.

Soro ou plasma:

Y (Sistemas SYNCHRON CX) ^a	= 1,04X + 0,06
N	= 75
MÉDIA (Sistemas SYNCHRON CX) ^a	= 4,93
MÉDIA (SYNCHRON AS [®])	= 4,91
COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO (r)	= 0,986

a Os dados apresentados foram obtidos utilizando os Sistemas SYNCHRON CX4/CX5. A equivalência entre os Sistemas SYNCHRON CX e SYNCHRON CX4/CX5 foi estabelecida através da análise de regressão de Deming.

Consulte a bibliografia (15), para obter informações sobre a realização de testes de equivalência.

PRECISÃO

Um Sistemas SYNCHRON CX[®] a funcionar correctamente deve apresentar valores de precisão inferiores ou iguais aos seguintes:

Quadro 8.0 Valores da precisão

TIPO DE PRECISÃO	TIPO DE AMOSTRA	1 DP (Desvio-padrão)		VALOR DE CHANGEOVER ^a		CV (%)
		mg/dL	µmol/L	mg/dL	µmol/L	
Intra-ensaio	Soro/Plasma	0,15	2,6	5,0	86,7	3,0
Total	Soro/Plasma	0,22	3,8	5,0	86,7	4,5

a Quando a média dos dados sobre a precisão do teste for inferior ou igual ao valor de changeover, compare o desvio-padrão do teste (DP) com o desvio-padrão (DP) de referência acima indicado, para determinar a aceitabilidade do teste da precisão. Quando a média dos dados sobre a precisão do teste for superior ao valor de changeover, compare o coeficiente de variação (% CV) do teste com o valor de referência acima indicado, para determinar a aceitabilidade do teste. Valor de changeover = (DP de referência/CV de referência) x 100.

Consulte a Bibliografia (16), para obter informações sobre a realização, no local, de testes da precisão.

AVISO

Os graus de precisão e equivalência indicados foram obtidos em procedimentos de teste normais realizados no Sistemas SYNCHRON CX[®] e não representam especificações de desempenho para este reagente.

INFORMAÇÃO ADICIONAL

Para informações pormenorizadas sobre os Sistemas SYNCHRON CX, consulte o manual do Sistema SYNCHRON CX apropriado.

DANOS DE TRANSPORTE

Se o produto entregue estiver danificado, informe o seu Centro de Apoio Clínico Beckman Coulter.

BIBLIOGRAFIA

1. Malloy, H. T., Evelyn, K. A., *J. Biol. Chem.*, 119 481 (1937).
2. Jendrassik, L., Grof, P., *Biochem. Z.*, 297:81 (1937).
3. U.S. Patent No. 4,672,041.
4. Tietz, N. W., "Specimen Collection and Processing; Sources of Biological Variation", *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Edition, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1994).
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens*, Approved Guideline, NCCLS publication H18-A, Villanova, PA (1990).
6. CDC-NIH manual, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. (1984).
7. Tietz, N. W., *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 2nd Edition, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1990).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *How to Define, Determine, and Utilize Reference Intervals in the Clinical Laboratory*, Approved Guideline, NCCLS publication C28-A, Villanova, PA (1994).
9. Tietz, N. W., ed., *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 3rd Edition, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1987).
10. Henry, J. B., *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 18th Edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA (1991).
11. Nafila, A.R., et al, "Spurious hyperbilirubinemia caused by naproxen, *Clinical Biochemistry* 42 129-131 (2009)
12. Young, D. S., *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 3rd Edition, AACC Press, Washington, D.C. (1990).
13. Friedman, R. B., Young, D. S., *Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests*, 2nd Edition, AACC Press, Washington, D.C. (1989).
14. Young, D. S., *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, AACC Press, Washington, D.C. (1993).
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples*, Tentative Guideline, NCCLS publication EP9-T, Villanova, PA (1993).
16. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Precision Performance of Clinical Chemistry Devices*, Tentative Guideline, 2nd Edition, NCCLS publication EP5-T2, Villanova, PA (1992).

 Beckman Coulter Ireland Inc., Mervue Business Park, Mervue, Galway, Ireland (353 91 774068)

 Beckman Coulter, Inc., 4300 N. Harbor Blvd., Fullerton, CA 92835

Beckman Coulter do Brasil Com e Imp de Prod de Lab Ltda, Estr dos Romeiros, 220 - Galpao G3 - Km 38.5, zip code 06501-001 - Sao Paulo - SP - Brasil, CNPJ: 42.160.812/0001-44