

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

Revisto por:	Data	Revisto por:	Data

PRINCÍPIO**APLICAÇÃO**

O reagente de DBIL, 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 (conjugada) directa (DBIL) em soro ou plasma humanos.

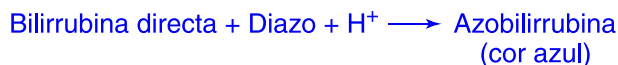
SIGNIFICADO CLÍNICO

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

METODOLOGIA

O reagente de DBIL é utilizado para determinar a concentração de DBIL através de um método diazo de ponto final de tempo fixo.^{1,2} Na reacção, o/a DBIL combina-se com a espécie diazo para formar azobilirrubina.

O Sistemas SYNCHRON CX® distribui automaticamente a amostra e os volumes de reagente apropriados na cuvete. A razão usada é uma parte de amostra para 32 partes de reagente. O sistema monitoriza a alteração da absorvância a 560 nanómetros. A variação de absorvância é directamente proporcional à concentração de DBIL na amostra e é utilizada pelo Sistema para calcular e exprimir essa concentração.

ESQUEMA DA REACÇÃO QUÍMICA

PT015218L.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.³ 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.⁴
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.⁴
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.

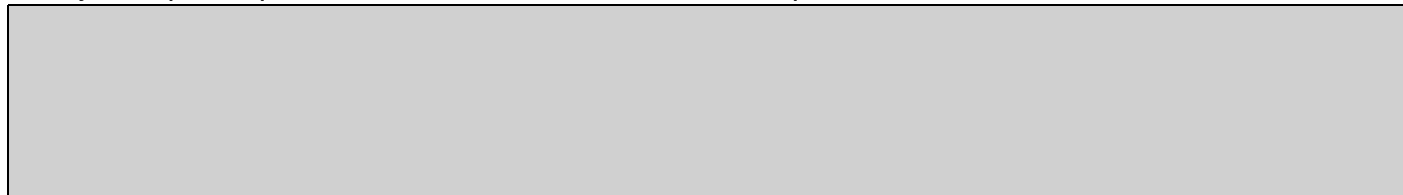
CrITÉrios de rejeição da amostra estabelecidos por este laboratório:

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 directa (2 x 200 testes) ou (2 x 300 testes)

VOLUMES POR TESTE

Volume da amostra	10 µL
Volume Total de Reagente	320 µL
Volumes dos Cartuchos	
A	310 µL
B	10 µL
C	--

INGREDIENTES REACTIVOS

CONSTITUINTES DO REAGENTE

Ácido sulfanílico	27 mmol/L
HCl	51 mmol/L
Nitrito de sódio	0,12 mmol/L

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



CUIDADO

Evite que o reagente entre em contacto com a pele. Em caso de contacto, utilize água para eliminar o reagente da pele.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS COM O CONJUNTO DE REAGENTES

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

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Não requer preparação.

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 DBIL é estável até ao fim do prazo de validade indicado no cartucho, desde que armazenado por abrir à temperatura ambiente.⁵ Uma vez aberto, o reagente é estável durante 30 dias entre +2°C e +8°C, excepto se o prazo de validade for ultrapassado. **NÃO CONGELAR.**

Local de armazenamento do reagente:

CALIBRAÇÃO

CALIBRADOR NECESSÁRIO

Calibrador de Bilirrubina para Sistemas SYNCHRON: A matriz do Calibrador de Bilirrubina para Sistemas SYNCHRON é derivada de soro humano desfibrinado e liofilizado. O valor atribuído a este calibrador é directamente rastreável relativamente ao Padrão 916 do NIST (National Institute of Standards).

Água desionizada (calibrador de nível baixo)

PREPARAÇÃO DO CALIBRADOR

Não requer preparação.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DO CALIBRADOR

Se não for aberto, o poderá ser guardado entre -15°C e -20°C até ao prazo de validade impresso na ampola do calibrador. Os calibradores abertos que são novamente selados e armazenados entre +2°C e +8°C são estáveis durante 24 horas, excepto nos casos em que o prazo de validade foi 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

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 do reagente para DBIL deve ser calibrado 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, normal e patológico, 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* do Sistemas 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

1. Se necessário, carregue o reagente no sistema, conforme indicado na Secção 6 do *Manual de Utilização* 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	0,0 – 0,2 mg/dL	0,0 – 3,4 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

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 amónio	29 Unidades/mL	NSI ^a
Heparina-lítio	29 Unidades/mL	NSI
Heparina sódica	29 Unidades/mL	NSI
EDTA	3 mg/mL	NSI
Citrato de sódio	6,6 mg/mL	NSI
Oxalato de Potássio/Fluoreto de Sódio	4,0 / 5,0 mg/mL	NSI

a NSI = Sem Interferência Significativa (dentro de $\pm 0,3$ mg/dL ou 10%).

LIMITAÇÕES

1. O método de Bilirrubina Directa dos Sistemas SYNCHRON é um método aperfeiçoado que possui especificidade acrescida para certas fracções conjugadas. No entanto, nenhum método diazo de bilirrubina directa permite uma estimativa completa de todas as fracções possíveis de bilirrubina conjugada.
2. Dado que a fonte de bilirrubina do Calibrador de Bilirrubina dos Sistemas SYNCHRON não é de origem humana, atribui-se o valor de referência para se obter uma boa concordância em amostras humanas com os métodos dos peritos. Isto obtém-se mediante inclusão de um factor na base de dados, o qual é aplicado ao resultado fornecido. Por conseguinte, o calibrador não recuperará o seu valor de referência quando for analisado como amostra.
3. A Beckman Coulter não validou este método para valores de bilirrubina directa em recém-nascidos. Cada laboratório deve estabelecer um intervalo de referência para valores em recém-nascidos.

INTERFERÊNCIAS

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

Quadro 4.0 Interferências

SUBSTÂNCIA	FONTE	NÍVEL TESTADO	EFEITO OBSERVADO SOBRE O ANALITO ^a
Bilirrubina	Bovino/a (não conjugado/a)	30 mg/dL	NSI ^b
Lipemia	Intralipid ^c	(4+) 500 mg/dL	-0,25 @ 0,5 mg/dL
Ácido ascórbico	NA ^d	3,0 mg/dL	NSI
Azida sódica	NA	5,0 mg/dL	NSI

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

b NSI = Sem Interferência Significativa (em $\pm 0,30$ mg/dL ou 10%).

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

d NA = Não aplicável.

2. A interferência da hemoglobina é uma combinação de interferência química e espectral. Para valores elevados de bilirrubina directa, a interferência da hemoglobina mudará de um desvio positivo para um desvio negativo.

Quadro 5.0 Interferências da hemoglobina

SUBSTÂNCIA	FONTE	NÍVEL TESTADO	EFEITO MÁXIMO OBSERVADO SOBRE O ANALITO ^a
Hemoglobina	Hemolisado de RBC	(4+) 400 mg/dL	≤+0,3 @ 0,5 mg/dL
		(2+) 200 mg/dL	≤-0,3 @ 3,1 mg/dL
		(2+) 200 mg/dL	≤-0,9 @ 8,3 mg/dL

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

3. Consulte a bibliografia (11,12,13), 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 – 10 mg/dL	1,7 – 171 µmol/L

O limite inferior do intervalo analítico representa o nível mínimo de detecção. As amostras cujas concentrações excedam o limite superior do intervalo analítico devem ser diluídas com albumina sérica humana (isenta de azidas) e novamente analisadas.

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	= 1,084X - 0,02
N	= 100
MÉDIA (Sistemas SYNCHRON CX) ^a	= 2,35
TAXA DE Y	= 0 - 11

Soro ou plasma:

MÉDIA (SYNCHRON AS [®])	= 2,17
TAXA DE X	= 0 - 10
COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO (r)	= 0,9859

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 (14), para obter informações sobre a realização de testes de equivalência.

PRECISÃO

Um Sistema SYNCHRON CX[®] que funcione correctamente deve exibir valores de precisão inferiores ou iguais aos limites máximos de desempenho indicados na tabela abaixo. Os limites máximos de desempenho foram obtidos através da análise da precisão de vários métodos, de resumos de testes de proficiência e de fontes bibliográficas.

Quadro 8.0 Limites máximos de desempenho

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	3,0	52,0	5,0
Total	Soro/Plasma	0,23	3,9	3,0	52,0	7,5

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.

O quadro abaixo apresenta dados comparativos sobre o desempenho do Sistema SYNCHRON CX[®], avaliado segundo as Orientações EP5-T2 propostas pelo NCCLS.¹⁵ Cada laboratório deve caracterizar o desempenho do seu próprio instrumento, para fins comparativos.

Quadro 9.0 NCCLS EP5-T2 — Método de Estimativa da Precisão

TIPO DE IMPRECISÃO	TIPO DE AMOSTRA	N.º de Sistemas	N.º de Pontos de Dados ^a	Valor médio do teste (mg/dL)	Médias Calculadas e Estimativas dos Pontos EP5-T2	
					SD	CV (%)
Intra-ensaio	Nível de Controlo 1	1	80	0,85	0,03	3,53
	Nível de Controlo 2	1	80	4,29	0,04	0,93
	Nível de Controlo 3	1	80	5,47	0,05	0,91
Total	Nível de Controlo 1	2	160	0,85	0,03	3,53
	Nível de Controlo 2	2	160	4,29	0,05	1,17
	Nível de Controlo 3	2	160	5,47	0,07	1,28

a A estimativa do ponto de soro/urina baseia-se nos dados associados de 2 sistemas, num processamento durante 20 dias, 2 processamentos por dia, 2 observações por processamento nos aparelhos utilizados e mantidos de acordo com as instruções do fabricante.

AVISO

Os graus de precisão e equivalência indicados foram obtidos em procedimentos de teste normais realizados no Sistema 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. Winkleman, J., Cannon, D. C., Jacobs, S. L., *Clinical Chemistry: Principles and Technics*, 1061, Harper and Row, Hagerstown, MD (1974).
3. Tietz, N. W., "Specimen Collection and Processing; Sources of Biological Variation", *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd Edition, W. B. Saunders, Philadelphia, PA (1994).
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens*, Approved Guideline, NCCLS publication H18-A, Villanova, PA (1990).
5. "USP XXII, NF XVII", United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, MD (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. Young, D. S., *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 3rd Edition, AACC Press, Washington, D.C. (1990).
12. Friedman, R. B., Young, D. S., *Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests*, 2nd Edition, AACC Press, Washington, D.C. (1989).
13. Young, D. S., *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, AACC Press, Washington, D.C. (1993).
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples*, Tentative Guideline, NCCLS publication EP9-T, Villanova, PA (1993).
15. 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