

Serviço de Apoio ao Cliente e de Assistência Técnica: 800-822-2947

Julho de 2011

PN: 400-7152 Rev: G

© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Aplicação

O Disco Plus do Painel Metabólico Básico Piccolo®, utilizado com o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou com o Analisador Químico Piccolo xpress™, destina-se a ser utilizado para a determinação quantitativa *in vitro* de cálcio, cloreto, creatinina, glicose, lactato desidrogenase, magnésio, potássio, sódio, dióxido de carbono total e azoto ureico no sangue em laboratórios clínicos ou locais de prestação de cuidados. **Este disco destina-se a testar apenas plasma heparinizado e soro.**

2. Resumo e explicação dos testes

O Disco Plus do Painel Metabólico Básico Piccolo e o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress contêm um sistema de diagnóstico *in vitro* que ajuda o médico no diagnóstico e tratamento das seguintes patologias:

Cálcio:	Hiperparatireoidismo, hipotireoidismo, doenças ósseas e doenças renais crônicas, tetania.
Cloreto:	Desidratação, diarreia prolongada e vômitos, doença tubular renal, hiperparatireoidismo, queimaduras, doenças renais com perda de sal, excesso de hidratação e terapêutica tiazídica.
Creatinina:	Doença renal e monitorização de diálise renal.
Glicose:	Distúrbios do metabolismo dos hidratos de carbono, incluindo diabetes mellitus e hipoglicemia em jovens e adultos, hipopituitarismo, pancreatite e doença renal.
Lactato desidrogenase:	Doenças hepáticas tais como hepatite viral aguda e cirrose; doenças cardíacas como enfarte do miocárdio; e alterações dos tecidos do coração, rins, fígado e músculos.
Magnésio:	Hipomagnesemia e hipermagnesemia.
Potássio:	Doença renal glomerular ou tubular, insuficiência adrenocortical, cetoacidose diabética, terapêutica com potássio administrado por via intravenosa em excesso, sépsis, panhipopituitarismo, hiperaldosteronismo, desnutrição, hiperinsulinismo, alcalose metabólica e perda gastrointestinal.
Sódio:	Desidratação, diabetes insipidus, perda de fluidos gastrointestinais hipotônicos, intoxicação por sal, diminuição selectiva da sensação de sede, perdas cutâneas, queimaduras, sudorese, hiperaldosteronismo, distúrbios do SNC, hiponatremia de diluição, depleção e delírio e síndrome de secreção inadequada de ADH.
Dióxido de carbono total:	Alcalose e acidose metabólicas primárias e alcalose e acidose respiratórias primárias.
Azoto ureico no sangue:	Doenças renais e metabólicas.

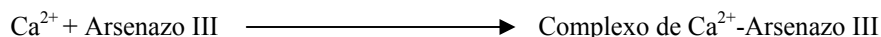
Tal como acontece com qualquer procedimento de teste de diagnóstico, todos os outros procedimentos de teste, incluindo o estado clínico do doente, devem ser considerados antes do diagnóstico final.

3. Princípio do procedimento

Cálcio (CA)

Os primeiros métodos utilizados para analisar o cálcio envolveram a precipitação do cálcio com um excesso de aniões.^{1,2,3} Os métodos de precipitação são trabalhosos e frequentemente imprecisos. O método de referência para o cálcio é a espectroscopia por absorção atômica; contudo, este método não é adequado à utilização de rotina.⁴ Os métodos espectrofotométricos que utilizam complexona de *o*-cresolftaleína ou arsenazo III como indicadores metalocrômicos são utilizados com maior frequência.^{5,6,7} O arsenazo III tem uma grande afinidade relativamente ao cálcio e não depende da temperatura como a CPC.

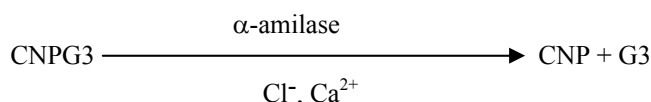
O cálcio na amostra do doente liga-se ao arsenazo III para formar um complexo de cálcio-corante.



A reacção de ponto final é monitorizada a 405 nm, 467 nm e 600 nm. A quantidade de cálcio na amostra é proporcional à absorvância.

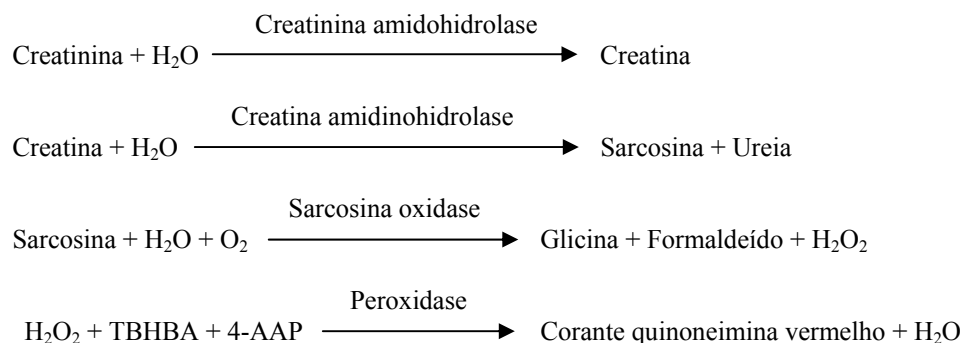
Cloreto (CL⁻)

O método baseia-se na determinação da activação dependente de cloreto da actividade de α -amilase. A α -amilase desactivada é reactivada pela adição do ião de cloreto, permitindo ao cálcio reassociar-se à enzima. A reactivação da actividade da α -amilase é proporcional à concentração de iões de cloreto na amostra. A α -amilase reactivada converte o substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNPG3), em 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP), produzindo cor e α -maltotriose (G3). A reacção é medida bicométicamente e o aumento em termos de absorvância é directamente proporcional à actividade de α -amilase reactivada e à concentração de iões de cloreto na amostra.⁸



Creatinina (CRE)

O método de Jaffe, introduzido pela primeira vez em 1886, continua a ser um método frequentemente utilizado na determinação dos níveis de creatinina no sangue. O método de referência actual combina a utilização de terra de Fuller (floridina) com a técnica de Jaffe para aumentar a especificidade da reacção.^{9,10} Foram desenvolvidos métodos enzimáticos mais específicos para creatinina do que as várias modificações da técnica de Jaffe.^{11,12,13} Os métodos que utilizam a enzima creatinina amidohidrolase eliminam o problema da interferência de iões de amónio detectada nas técnicas que utilizam a creatinina iminohidrolase.¹⁴



São utilizadas duas cuvets para determinar a concentração de creatinina na amostra. A creatina endógena é medida na cuvete de branco, que é subtraída da creatina endógena combinada e da creatina formada a partir das reacções enzimáticas na cuvete de teste. Quando a creatina endógena for eliminada dos cálculos, a concentração de creatinina será proporcional à intensidade da cor vermelha produzida. A reacção de ponto final é medida como a diferença de absorvância entre 550 nm e 630 nm.

TFGe (calculada)

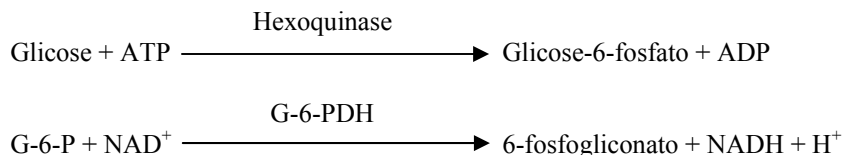
A creatinina no soro é regularmente medida como indicador da função renal. Uma vez que a creatinina é influenciada pela idade, pelo sexo e pela raça, a doença renal crónica (DRC) pode não ser detectada utilizando apenas a creatinina no soro. Assim, o Programa Nacional de Educação para a Doença Renal (EUA) recomenda vivamente que os laboratórios comuniquem regularmente uma Taxa de Filtração Glomerular estimada (TFGe) quando se medir a creatinina no soro em doentes com idades iguais ou superiores a 18 anos. A comunicação regular da TFGe com todas as determinações de creatinina no soro permite que os laboratórios ajudem a identificar indivíduos com uma função renal reduzida e a facilitar a detecção de DRC. Os valores de TFGe calculados <60 mL/min são geralmente associados a um aumento do risco de resultados adversos de DRC.

O cálculo da TFGe é realizado pelo Piccolo utilizando a idade, o sexo e a raça do doente. O método Piccolo para a creatinina é rastreável ao método de referência de IDMS para creatinina, pelo que é possível utilizar a seguinte forma da equação MDRD para calcular a TFGe.

$$\text{TFG (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 175 \times (\text{S}_{\text{cr}})^{-1,154} \times (\text{Idade})^{-0,203} \times (0,742 \text{ para mulheres}) \times (1,212 \text{ para afro-americanos})$$

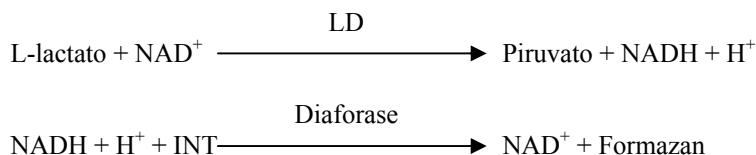
Glicose (GLU)

As primeiras medições da concentração de glicose foram realizadas utilizando métodos de redução de cobre (como o de Folin-Wu¹⁵ e Somogyi-Nelson^{16,17}). A falta de especificidade das técnicas de redução de cobre conduziu ao desenvolvimento de procedimentos quantitativos que utilizam as enzimas hexoquinase e glicose oxidase. O teste de glicose incorporado no Disco de Reagente Plus do Painel Metabólico Básico consiste numa versão modificada do método de hexoquinase, que foi proposto como a base para o método de referência de glicose.¹⁸ A reacção da glicose com trifosfato de adenosina (ATP), catalisada por hexoquinase (HK), produz glicose-6-fosfato (G-6-P) e difosfato de adenosina (ADP). A glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH) catalisa a reacção de G-6-P em 6-fosfogliconato e a redução de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) em NADH.



Lactato desidrogenase (LD)

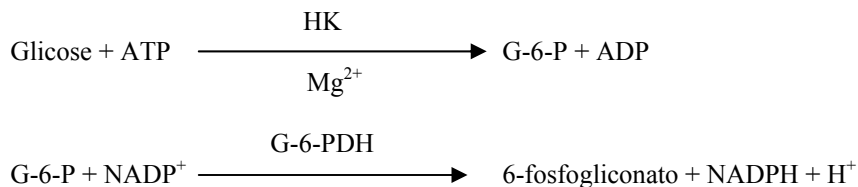
O lactato desidrogenase (LD) catalisa a oxidação reversível de L-lactato em piruvato com a redução simultânea de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) para nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) reduzido. O método baseia-se na reacção de lactato em piruvato de Wacker et al.¹⁹ O NADH é subsequentemente oxidado com a redução simultânea de violeta de p-iodonitrotetrazolio (INT) para uma um corante formazan extremamente colorido numa reacção catalisada por diaforase.



A taxa de formação de formazan é medida bicromaticamente a 500 nm e 630 nm. A taxa é directamente proporcional à actividade de LD da amostra.

Magnésio (MG)

O método de activação de hexoquinase (HK) para magnésio é o método mais adequado para o sistema Piccolo, em termos de sensibilidade, precisão e exactidão.²⁰ O método enzimático pode ser descrito da seguinte forma:



A reacção de limitação cinética é a reacção de HK. O magnésio da amostra activa a HK, que por sua vez catalisa a decomposição de glicose para formar glicose-6-fosfato (G-6-P) e ADP. O G-6-P reage com o fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido (NADP⁺) para formar fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido (NADPH) reduzido e 6-fosfogliconato na presença de glicose-6-fosfato-dehidrogenase (G-6-PDH). Trata-se de uma reacção cinética de primeira ordem. A taxa produção de NADPH é directamente proporcional à quantidade de magnésio presente na amostra. A absorvância é medida bicromaticamente a 340 nm e 405 nm.

Potássio (K⁺)

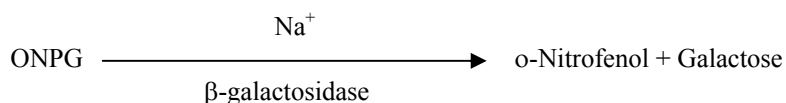
Foram desenvolvidos métodos espectrofotométricos que permitem a medição da concentração de potássio na instrumentação de química clínica padrão. O método enzimático da Abaxis baseia-se na activação de piruvato quinase com potássio e apresenta uma excelente linearidade e susceptibilidade insignificante a substâncias endógenas.^{21,22,23} A interferência de iões de sódio e amónio é minimizada com a adição de Kryptofix e glutamato desidrogenase, respectivamente.²³

Na reacção enzimática acoplada, a piruvato quinase (PK) desfosforila o fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. A lactato desidrogenase (LD) catalisa a conversão de piruvato em lactato. Concomitantemente, o NADH é oxidado em NAD⁺. A taxa de variação da absorvância devido à conversão de NADH em NAD⁺ é directamente proporcional à quantidade de potássio na amostra.



Sódio (Na⁺)

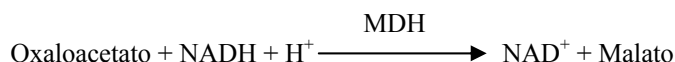
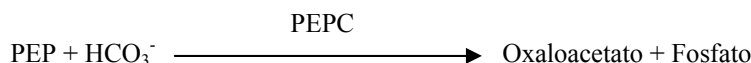
Foram desenvolvidos métodos colorimétricos e enzimáticos que permitem medir a concentração de sódio na instrumentação de química clínica padrão.^{24,25,26} Na reacção enzimática da Abaxis, a β-galactosidase é activada pelo sódio na amostra. A enzima activada catalisa a reacção de o-nitrofenil-β-D-galactopiranosido (ONPG) em o-nitrofenol e galactose.



Dióxido de carbono total (tCO₂)

O dióxido de carbono total no soro ou plasma existe sob a forma de dióxido de carbono dissolvido, derivados carbamino de proteínas, iões de bicarbonato e carbonato e ácido carbónico. O dióxido de carbono total pode ser medido através do indicador de pH, do eléctrodo de CO₂ e métodos enzimáticos espectrofotométricos, os quais produzem todos resultados exactos e precisos.^{27,28} O método enzimático é bastante adequado para utilização num analisador químico de sangue de rotina sem adicionar complexidade.

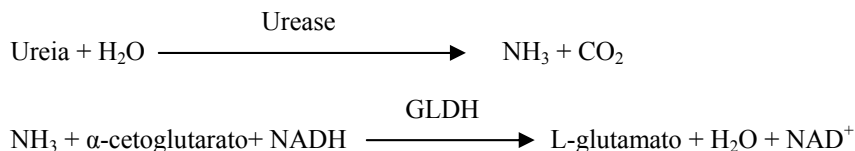
No método enzimático, a amostra é primeiramente alcalinizada para converter todas as formas de dióxido de carbono (CO₂) em bicarbonato (HCO₃⁻). Em seguida, o fosfoenolpiruvato (PEP) e HCO₃⁻ reagem para formar oxaloacetato e fosfato na presença de fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC). A malato desidrogenase (MDH) catalisa a reacção de oxaloacetato e nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) reduzido em NAD⁺ e malato. A taxa de variação de absorvância devido à conversão de NADH em NAD⁺ é directamente proporcional à quantidade de CO₂ na amostra.



Azoto ureico no sangue (BUN)

A ureia pode ser medida directa e indirectamente. A reacção da diacetilmonoxima, o único método directo para medir a ureia, é frequentemente utilizada, embora empregue reagentes perigosos.²⁹ Os métodos indirectos medem a amónia criada a partir da ureia; a utilização da enzima urease aumentou a especificidade destes testes.³⁰ A amónia é quantificada por uma variedade de métodos, incluindo a nesslerização (titulação de ácido), a técnica de Berthelot^{31,32} e reacções enzimáticas acopladas.^{33,34} No entanto, os procedimentos de Berthelot catalisados são inconstantes para a medição de amónia.³⁵ As reacções enzimáticas acopladas são rápidas, apresentam uma elevada especificidade para a amónia e são frequentemente utilizadas. Uma destas reacções foi proposta como candidato a método de referência.³⁶

Na reacção enzimática acoplada, a urease hidrolisa a ureia em amónia e dióxido de carbono. Ao combinar amónia com α-cetoglutarato e NADH, a enzima glutamato desidrogenase (GLDH) oxida NADH em NAD⁺.



4. Princípio de funcionamento

Consulte no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress os princípios e limitações do procedimento. Schembri et al fornecem uma descrição detalhada do analisador Piccolo e do disco de reagente.³⁷

5. Descrição dos reagentes

Reagentes

Cada Disco Plus do Painel Metabólico Básico Piccolo contém esferas de reagente secas específicas do teste (descritas abaixo). É incluído em cada disco um reagente de branco de amostra seca (composto por tampão, surfactantes, excipientes e conservantes) para utilização no cálculo de concentrações de cálcio, cloreto, glicose, lactato desidrogenase, magnésio, potássio, sódio, dióxido de carbono total e azoto ureico no sangue. É incluído no disco para creatinina (CRE) um branco de amostra dedicado. Cada disco contém ainda um diluente composto por surfactantes e conservantes.

Tabela 1: Reagentes

Componente	Quantidade/Disco
2, 4, 6-tribromo-3-ácido hidroxibenzóico	188 µg
2-cloro-4-nitrofenil -alfa-maltotriósido (CNPG3)	52,5 µg
4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosano (Kryptofix 222)	0,3 µg
4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5]trisocosano (Kryptofix 221)	84 µg
4-aminoantipirina*HCl	13 µg
N-acetilcisteína	15,3 µg
Adenosina-5'-trifosfato	27 µg
Amilase	0,0357 U
Arsenazo III, sal sódico	1,7 µg
Ascorbato oxidase	0,3 U
Reagente Bovuminar, pó em estado puro	164 µg
Acetato de cálcio	25,2 µg
Ácido cítrico, sal trissódico	567 µg
Creatina amidinohidrolase	3 U
Creatinina amidohidrolase	1 U
Dextrano, baixa fracção	224 µg
Diaforase	0,084 U
Ácido etilenoglicol-bis(β-aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetracético (EGTA)	18,8 µg
Ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA)	178,42 µg
β-galactosidase	0,005 U
Glicose	64 µg
Glicose-6-fosfato desidrogenase	0,022 U
Glutamato desidrogenase	0,1 U
Hexoquinase	0,112 U
Violeta de p-iodonitrotetrazolio (INT)	5,082 µg
Imidazol	29 µg
mio-inositol	160 µg
Ácido α-cetoglutárico	19 µg
Lactato desidrogenase	0,3 U
Lactato de lítio	96,77 µg
Sulfato de magnésio	29 µg
Malato desidrogenase	0,1 U
D-manitol	420 µg
β-nicotinamida adenina dinucleótido (NAD ⁺)	89,2 µg
β-nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) reduzido	28 µg
β-fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido (NADP ⁺), sal sódico	29,6 µg
o-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo (ONPG)	22 µg
n-oetil glicosídeo	21 µg
Peroxidase	1 U
Fosfoenolpiruvato	23 µg
Fosfoenolpiruvato carboxilase	0,001 U

Tabela 1: Reagentes (continuação)

Componente	Quantidade/Disco
Polietilenoglicol, 3400	168 µg
Polivinilpirrolidona (K 29-32)	4 µg
Cloreto de potássio	47,59 µg
Ferricianeto de potássio	0,4 µg
Piruvato quinase	0,01 U
Sarcosina oxidase	1 U
Cloreto de sódio	12 µg
D(+) trealose, dihidratado	650 µg
Cloridrato de trietanolamina	19,16 µg
Tris(hidroximetil)aminometano (base livre)	296,44 µg
Tris(hidroximetil)aminometano*HCl	40,91 µg
Triton X-100	1,72 µg
Urease	0,05 U
Tampões, surfactantes, excipientes e conservantes	

Advertências e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- O recipiente de diluente no disco de reagente é automaticamente aberto ao fechar a gaveta do analisador. Não é possível reutilizar um disco com um recipiente de diluente aberto. Certifique-se de que a amostra ou o controlo foi colocada/o no disco antes de fechar a gaveta.
- Os discos de reagente usados contêm fluidos corporais humanos. Siga as boas práticas de segurança laboratorial quando manusear e eliminar discos usados.³⁸ Consulte no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress as instruções de limpeza de derrames biologicamente perigosos.
- Os discos de reagente são de plástico e podem rachar ou partir-se se caírem. Nunca utilize um disco que tenha caído, uma vez que pode espalhar materiais biologicamente perigosos no interior do analisador.
- As esferas de reagente podem conter ácidos ou substâncias cáusticas. O operador não entra em contacto com as esferas de reagente se os procedimentos recomendados forem seguidos. Na eventualidade de manuseamento das esferas (por exemplo, durante a limpeza depois de um disco cair e se partir), evite a ingestão, o contacto com a pele ou a inalação das esferas de reagente.

Instruções para o manuseamento de reagentes

É possível utilizar os discos de reagente directamente a partir do frigorífico sem aquecer. Não permita que os discos selados em bolsas de alumínio permaneçam à temperatura ambiente durante mais de 48 horas antes da utilização. Abra a bolsa de alumínio selada, retire o disco e utilize de acordo com as instruções fornecidas no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress. Um disco que não seja utilizado dentro de 20 minutos após a abertura da bolsa deverá ser eliminado.

Armazenamento

Armazene os discos de reagente nas respectivas bolsas seladas a 2–8 °C (36–46 °F). Não exponha os discos, abertos ou fechados, a luz solar directa ou a temperaturas superiores a 32 °C (90 °F). Pode utilizar os discos de reagente até ao prazo de validade incluído na embalagem. O prazo de validade também está codificado no código de barras impresso no anel de código de barras. Será apresentada uma mensagem de erro no visor do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress se os reagentes estiverem fora do prazo.

Indicações de instabilidade/deterioração do disco de reagente

Uma bolsa rasgada ou que apresente qualquer tipo de danos pode permitir a entrada de humidade no disco não utilizado e afectar adversamente o desempenho do reagente. Não utilize um disco de uma bolsa danificada.

6. Instrumento

Consulte no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress informações completas sobre como utilizar o analisador.

7. Colheita e preparação das amostras

As técnicas de colheita das amostras são descritas na secção “Colheita de amostras” do Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress.

- O volume mínimo da amostra necessário é ~100 µL de plasma heparinizado, soro ou material de controlo. A câmara da amostra do disco de reagente pode conter até 120 µL de amostra.
- Não agite o tubo de colheita; a agitação pode provocar hemólise. A hemólise irá provocar resultados incorrectamente elevados em ensaios de potássio e lactato desidrogenase.
- Adicionalmente, mesmo amostras não hemolisadas que não sejam imediatamente processadas podem ter aumentado os níveis de potássio devido a fuga de potássio intracelular.³⁹
- Para as amostras de plasma, utilize apenas tubos de colheita de amostras evacuados com heparina de lítio (tampa verde). Para as amostras de soro, utilize tubos de colheita de amostras evacuados sem aditivos (tampa vermelha) ou tubos para separação de soro (tampa vermelha ou vermelha/preta).
- Inicie o teste no prazo de 10 minutos após a transferência da amostra para o disco de reagente.
- A concentração de dióxido de carbono total é determinada com maior exactidão quando o ensaio é processado imediatamente após a abertura do tubo e o mais rapidamente possível após a colheita e processamento do sangue no tubo fechado. O ar ambiente contém muito menos dióxido de carbono do que o plasma e dióxido de carbono dissolvido gasoso escapa da amostra para o ar, com uma consequente diminuição no valor de dióxido de carbono até 6 mmol/L no decorrer de 1 hora.⁴⁰

8. Procedimento

Materiais fornecidos

- Um Disco Plus do Painel Metabólico Básico Piccolo PN: 400-1031 (uma caixa de discos, PN: 400-0031)

Materiais necessários mas não fornecidos

- Analisador Químico de Sangue Piccolo ou Analisador Químico Piccolo xpress.
- Reagentes de controlo comercialmente disponíveis recomendados pela Abaxis (consulte o Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress).

Parâmetros de teste

O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress funciona a temperaturas ambiente entre os 15 °C e os 32 °C (59–90 °F). O tempo de análise de cada Disco Plus do Painel Metabólico Básico Piccolo é inferior a 14 minutos. O analisador mantém o disco de reagente à temperatura de 37 °C (98,6 °F) durante o intervalo de medição.

Procedimento de teste

Os procedimentos completos de colheita da amostra e os procedimentos passo a passo relativos ao funcionamento são descritos no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress.

Calibração

O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress encontra-se calibrado pelo fabricante antes do envio. O código de barras impresso no anel de código de barras indica ao analisador os dados de calibração específicos do disco. Consulte o Manual do Operador do Analisador Químico Piccolo.

Controlo de qualidade

O desempenho do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress pode ser verificado através do processamento de controlos. Os controlos recomendados pela Abaxis estão listados no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress. Outros controlos à base de soro humano ou plasma podem não ser compatíveis.

Consulte no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress uma descrição detalhada sobre o processamento, registo, interpretação e representação gráfica dos resultados de controlo.

9. Resultados

O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress calcula e imprime automaticamente as concentrações do analito na amostra. Os detalhes dos cálculos de reacção de ponto final e cinética encontram-se no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress.

A interpretação dos resultados é descrita no Manual do Operador. Os resultados são impressos em cartões de resultados fornecidos pela Abaxis. Os cartões de resultados têm um verso autocolante para facilitar a colocação nos ficheiros dos doentes.

10. Limitações do procedimento

As limitações gerais do procedimento são descritas no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress.

- Este disco só pode ser utilizado com plasma heparinizado ou soro devido à susceptibilidade de valores de LD falsamente elevados de ruptura de células sanguíneas.
- O único anticoagulante **recomendado para utilização** com o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress é a **heparina de lítio**. A Abaxis realizou estudos que demonstram que o EDTA, fluoreto, oxalato e qualquer anticoagulante que contenha iões de amónio interferem com pelo menos um dos químicos contidos no Disco Plus do Painel Metabólico Básico Piccolo.
- **Qualquer resultado de um determinado teste que exceda o intervalo de ensaio deverá ser analisado através de outro método de teste aprovado ou enviado para um laboratório de referência. Não dilua a amostra e processe novamente no Analisador Químico de Sangue Piccolo.**

Advertência: Testes extensivos com o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress demonstraram que, em casos muito raros, a amostra distribuída no disco de reagente pode não fluir devidamente para a câmara da amostra. Devido ao fluxo não uniforme, é possível que seja analisada uma quantidade de amostra inadequada e vários resultados poderão encontrar-se fora dos intervalos de referência. A amostra pode ser reprocessada utilizando um novo disco de reagente.

Interferência

Foram testadas substâncias como interferentes com os analitos. Foram preparados pools de soro humano. A concentração a que cada substância potencialmente interferente foi testada baseou-se nos níveis de teste da directriz NCCLS EP7-A.⁴¹

Efeitos de substâncias endógenas

- As substâncias interferentes fisiológicas (hemólise, icterícia e lipémia) provocam alterações nas concentrações apresentadas de alguns analitos. Os índices de amostra encontram-se impressos na parte inferior de cada cartão de resultado para informar o operador dos níveis de substâncias interferentes presentes em cada amostra. O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress suprime quaisquer resultados que sejam afectados por >10% de interferência resultante de hemólise, lipémia ou icterícia. “HEM”, “LIP” ou “ICT” respectivamente, é impresso no cartão de resultados em vez do resultado, com a excepção da LD. Consulte no próximo ponto uma explicação sobre os efeitos na LD. Para os limites endógenos, contacte o Serviço de Assistência Técnica da Abaxis.
- Encontram-se níveis significativos de LD nos glóbulos vermelhos. As ruptura destas células pode levar a um aumento de níveis de LD. Assim, todos os ensaios de LD são sensíveis à hemólise devido à libertação de LD dos glóbulos vermelhos. Não existiu interferência significativa na LD (>10%) quando foram testados valores de HEM até 50 mg/dL. Para o ensaio de LD, apenas, se HEM for superior a 50 e inferior ou igual a 100 mg/dL, o valor de LD será impresso seguido de um "H" indicando alguma influência adicional de hemólise. Se a HEM for superior a 100 mg/dL e inferior ou igual a 150 mg/dL, o valor de LD será precedido de “<” e seguido de um "H". Indicando assim que a verdadeira recuperação de LD é inferior ao referido. A finalidade destas anotações é ajudar a interpretar a actividade de LD na presença de pequenas quantidades de hemólise. Para valores de HEM superiores a 150, não será indicado nenhum resultado e apenas "HEM" será impresso.
- Níveis de amilase extremamente elevados (>9.000 U/L) terão um efeito significativo, aumento >10%, nos resultados de cloreto. A concentração de amilase não é avaliada em cada amostra pelo Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress.
- O ensaio de potássio no Analisador Químico de Sangue Piccolo ou no Analisador Químico Piccolo xpress é um ensaio acoplado de piruvato quinase (PK) / lactato desidrogenase (LD ou LDH). Assim, em casos de traumatismo muscular extremo ou de níveis altamente elevados de creatina quinase (CK), o Piccolo pode recuperar um valor potássio (K+) falsamente elevado. Nesses casos, é necessário a confirmação de recuperações de níveis elevados de potássio inesperadas utilizando uma metodologia diferente.

Efeitos de substâncias terapêuticas e metabolitos

Foram seleccionados trinta e oito fármacos e metabolitos como potenciais interferentes com métodos de cloreto, cálcio, creatinina, glicose, magnésio, potássio, sódio, dióxido de carbono total e azoto ureico no sangue. Os fármacos e metabolitos avaliados foram escolhidos com base nas recomendações de Young.⁴² Onze destes elementos foram testados pelo ensaio de LD e estão marcados com *. Duas substâncias adicionais (ácido láctico e citrato de lítio), marcadas com (apenas LD), foram seleccionadas como potenciais interferentes para o ensaio de LD e testadas só com este ensaio. A interferência significativa define-se como um desvio no resultado >10% de uma amostra de controlo. Os pools de soro humano foram suplementados com concentrações conhecidas dos fármacos ou químicos e posteriormente analisados.

Tabela 2: Substâncias terapêuticas avaliadas

	Intervalo fisiológico ou terapêutico ⁴¹⁻⁴⁵ (mg/dL)	Concentração mais elevada testada (mg/dL)
Acetaminofeno*	2–10	100
Acetoacetato*	0,05–3,6	102
Ácido acetilsalicílico*	1–2	50
Ampicilina	0,5	30
Ácido ascórbico	0,8–1,2	20
Ácido ascórbico* (LD)	0,8–1,2	3
Caféina*	0,3–1,5	10
Cefalotina (Keflin)	10	400
Cloranfenicol	1–2,5	100
Cimetidina	0,1–1	16
Dopamina	0,3–1,5	19
Epinefrina		1
Eritromicina	0,2–2,0	10
Glutathione		30
Hidroclorotiazida		7,5
Ibuprofeno*	0,5–4,2	50
Isoniazida	0,1–0,7	4
Cetoprofeno		50
L-dopa		5
Ácido láctico (apenas LD)	4,5–19,8	60
Lidocaína*	0,15–0,60	1
Citrato de lítio (apenas LD)	0,4–0,8	3,5
Lactato de lítio	6–12	84
Metilicina		100
Metotrexato	>50,05 ^A	0,5
Metotrexato* (LD)	>50,05	450
Metronidazol	0,1	5
Nafcilina		1
Nitrofurantoína	0,2	20
Oxacilina		1
Oxaloacetato*		132
Penicilina G		100
Fenitoína (5,5-difenilhidantoína)*	1–2	3
Prolina		4
Piruvato*	0,3–0,9	44
Rifampicina	0,4–3	0,5
Ácido salicílico		50
Sulfadiazina		150
Sulfanilamida	10–15	50
Teofilina	1–2	20

^A Concentração terapêutica de metotrexato actualizada com base na Directriz n.º 27 do NCCLS Vol. 22.

Tabela 3: Substâncias com interferência significativa >10%

	Intervalo/ fisiológico terapêutico⁴¹⁻⁴⁵ (mg/dL)	Concentração com interferência >10% (mg/dL)	% de interferência^A
Cálcio	Nenhum	Nenhuma	Nenhuma
Cloreto	Nenhum	Nenhuma	Nenhuma
Creatinina			
Ácido ascórbico	0,8–1,2	20	dim. 11%
Dopamina	0,3–1,5	19	dim. 80%
L-dopa		5	dim. 71%
Epinefrina		1	dim. 45%
Glutathione		30	dim. 13%
Glicose			
Oxaloacetato		132	dim. 11%
Piruvato	0,3–0,9	44	
Lactato desidrogenase			
Oxaloacetato		99 (sem efeito a 66)	dim. 18%
Magnésio	Nenhum	Nenhuma	Nenhuma
Potássio			
Penicilina G		100	aum. 17%
Sulfadiazina	2–4	150	dim. 12%
Sódio			
Cefalotina	10	400	aum. 12%
Metotrexato	>50,05	0,5	aum. 11%
Penicilina G		100	aum. 10%
Dióxido de carbono total			
Acetaminofeno	2–10	100	aum. 11%
Ácido ascórbico	0,8–1,2	20	dim. 12%
Cefalotina	10	400	aum. 13%
Cimetidina	0,1–1	16	dim. 19%
Eritromicina	0,2–2,0	10	dim. 21%
Lidocaína	0,15–0,60	1	aum. 23%
Metotrexato	>50,05	0,5	dim. 80%
Nitrofurantoina	0,2	20	aum. 13%
Ácido salicílico	15–30	50	dim. 17%
Sulfadiazina	2–4	150	dim. 25%
Azoto ureico no sangue	Nenhum	Nenhuma	Nenhuma

^A Dim.= diminuição na concentração do analito especificado; Aum. = aumento na concentração do analito especificado

^B Concentração terapêutica de metotrexato actualizada com base na Directriz n.º 27 do NCCLS Vol. 22.

Tabela 4: Concentração de analitos em pool de soro utilizado para estudos de interferência

Analito	Concentração
Cálcio	9,5 mg/dL
Cloreto	93 mmol/L
Creatinina	4,1 mg/dL
Glicose	96 mg/dL
Lactato desidrogenase	276 U/L e 703 U/L
Magnésio	4,3 mg/dL
Potássio	3,8 mmol/L
Sódio	124 mmol/L
Dióxido de carbono total	6 mmol/L
Azoto ureico no sangue	26 mg/dL

- Para o ensaio de cloreto, o brometo em níveis tóxicos (≥ 15 mmol/L) pode originar um efeito significativo (aumento $>10\%$), no resultado de cloreto. O iodeto em concentrações muito elevadas (30 mmol/L, nível mais elevado testado) não tem qualquer efeito. Níveis fisiológicos normais de brometo e iodeto não interferem com o Sistema de Testes de Cloreto Piccolo.

11. Valores esperados

Foram analisadas amostras de 60–150 adultos do sexo masculino e feminino no Analisador Químico de Sangue Piccolo ou no Analisador Químico Piccolo xpress para determinar o intervalo de referência dos analitos, à exceção de LD. Para LD, o intervalo de referência foi estabelecido aplicando estatísticas de regressão linear de um estudo de correlação versus o Synchron LX20 da Beckman em relação ao intervalo de referência publicado do LX20. Estes intervalos são fornecidos apenas como orientação. Recomenda-se que o seu departamento ou a sua instituição estabeleçam os intervalos normais para sua população de doentes específica.⁴⁶

Tabela 5: Intervalos de referência do Analisador Piccolo

Analito	Unidades comuns	Unidades SI
Cálcio	8,0–10,3 mg/dL	2,0–2,58 mmol/L
Cloreto	98–108 mmol/L	98–108 mmol/L
Creatinina	0,6–1,2 mg/dL	53–106 μ mol/L
Glicose	73–118 mg/dL	4,05–6,55 mmol/L
Lactato desidrogenase*	99–192 U/L	99–192 U/L
Magnésio	1,6–2,3 mg/dL	0,66–0,95 mmol/L
Potássio	3,6–5,1 mmol/L	3,6–5,1 mmol/L
Sódio	128–145 mmol/L	128–145 mmol/L
Dióxido de carbono total	18–33 mmol/L	18–33 mmol/L
Azoto ureico no sangue (BUN)	7–22 mg/dL	2,5–7,9 mmol ureia/L

* Foi observado um pequeno aumento (aproximadamente 6 U/L) de lactato desidrogenase no soro quando comparado com plasma heparinizado. Este aumento é consistente com a diferença entre soro e plasma para LD conforme descrita na literatura.^{47,48} A LD é libertada das células sanguíneas durante o processo de coagulação na preparação de soro.

12. Características de desempenho

Linearidade

A química de cada analito é linear no intervalo dinâmico abaixo indicado quando o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo xpress é utilizado de acordo com o procedimento recomendado (consulte o Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo xpress).

Tabela 6: Intervalos dinâmicos do Analisador Piccolo

Analito	Unidades comuns	Unidades SI
Cálcio	4,0–16,0 mg/dL	1,0–4,0 mmol/L
Cloreto	80–135 mmol/L	80–135 mmol/L
Creatinina	0,2–20 mg/dL	18–1.768 µmol/L
Glicose	10–700 mg/dL	0,56–38,9 mmol/L
Lactato desidrogenase	50–1000 U/L	50–1000 U/L
Magnésio	0,1–8,0 mg/dL	0,04–3,3 mmol/L
Potássio	1,5–8,5 mmol/L	1,5–8,5 mmol/L
Sódio	110–170 mmol/L	110–170 mmol/L
Dióxido de carbono total	5–40 mmol/L	5–40 mmol/L
Azoto ureico no sangue (BUN)	2–180 mg/dL	0,7–64,3 mmol ureia/L

Sensibilidade (limites de detecção)

O limite inferior de detecção do intervalo reportável (dinâmico) para cada analito é de: cálcio 4,0 mg/dL (1,0 mmol/L); cloreto 80 mmol/L; creatinina 0,2 mg/dL (18 µmol/L); glicose 10 mg/dL (0,56 mmol/L); lactato desidrogenase 50,0 U/L; magnésio 0,1 mg/dL (0,04 mmol/L); potássio 1,5 mmol/L; sódio 110 mmol/L; dióxido de carbono total 5 mmol/L; e azoto ureico no sangue 2,0 mg/dL (0,7 mmol ureia/L).

Precisão

Foram realizados estudos de precisão utilizando as directrizes NCCLS EP5-A2⁴⁹ com modificações baseadas na NCCLS EP18-A⁵⁰ para dispositivos de utilização unitária. Os resultados de precisão intra-ensaio e total foram determinados utilizando dois níveis de materiais de controlo comercialmente disponíveis. Os estudos utilizaram vários instrumentos. Foram efectuados testes de cálcio, creatinina, glicose, sódio e azoto ureico no sangue num local; foram efectuados testes de potássio e dióxido de carbono total em dois locais durante 20 dias; foram efectuados testes de cloreto, lactato desidrogenase e magnésio em dois locais durante um período de cinco dias.

Os resultados dos estudos de precisão são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Precisão

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Cálcio (mg/dL)			
<u>Controlo 1</u>	N = 80		
Média		8,6	8,6
DP		0,21	0,25
%CV		2,4	2,9
<u>Controlo 2</u>			
Média		11,8	11,8
DP		0,39	0,40
%CV		3,3	3,4
Cloreto (mmol/L)	N = 160		
<u>Controlo 1</u>			
Média		97,8	97,8
DP		1,63	1,74
%CV		1,7	1,7
<u>Controlo 2</u>			
Média		113,6	113,6
DP		1,97	2,22
%CV		1,7	2,0

Tabela 7: Precisão (continuação)

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Creatinina (mg/dL)	N=80		
<u>Controlo 1</u>			
Média		1,1	1,1
DP		0,14	0,14
%CV		12,5	13,1
<u>Controlo 2</u>			
Média		5,2	5,2
DP		0,23	0,27
%CV		4,4	5,2
Glicose (mg/dL)	N=80		
<u>Controlo 1</u>			
Média		66	66
DP		0,76	1,03
%CV		1,1	1,6
<u>Controlo 2</u>			
Média		278	278
DP		2,47	3,84
%CV		0,9	1,4
Lactato desidrogenase (U/L)	N=80		
<u>Controlo 1</u>			
Média		87	87
DP		3,0	4,4
%CV		3,4	5,0
<u>Controlo 2</u>			
Média		350	350
DP		3,8	7,0
%CV		1,1	2,0
Magnésio (mg/dL)	N = 80		
<u>Controlo 1</u>			
Média		1,9	1,9
DP		0,03	0,06
%CV		1,7	3,4
<u>Controlo 2</u>			
Média		3,9	3,9
DP		0,04	0,10
%CV		1,0	2,6
Potássio (mmol/L)	N = 120		
<u>Controlo 1</u>			
Média		6,12	6,12
DP		0,32	0,32
%CV		5,2	5,7
<u>Controlo 2</u>			
Média		4,10	4,10
DP		0,24	0,26
%CV		5,9	6,3

Tabela 7: Precisão (continuação)

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Sódio (mmol/L)	N = 80		
<u>Controlo 1</u>			
Média		143,5	143,5
DP		2,28	2,28
%CV		1,6	1,6
<u>Controlo 2</u>			
Média		120,0	120,0
DP		2,13	2,13
%CV		1,8	1,8
Dióxido de carbono total (mmol/L)	N = 120		
<u>Controlo 1</u>			
Média		21,4	21,4
DP		2,29	2,29
%CV		10,7	10,7
<u>Controlo 2</u>			
Média		10,5	10,5
DP		0,90	0,90
%CV		8,6	8,6
Azoto ureico no sangue (mg/dL)	N = 80		
<u>Controlo 1</u>			
Média		19	19
DP		0,35	0,40
%CV		1,9	2,1
<u>Controlo 2</u>			
Média		65	65
DP		1,06	1,18
%CV		1,6	1,8

Coeficiente

Foram obtidas e analisadas amostras de soro e plasma heparinizado para o ensaio de LD no Analisador Químico de Sangue Piccolo e por método(s) comparativo(s). Em alguns casos, foram utilizadas amostras com elevada e reduzida suplementação para cobrir o intervalo dinâmico. As amostras foram seleccionadas de modo a cumprir os valores de distribuição da directriz NCCLS EP9-A2.⁵¹ A Tabela 7 apresenta estatísticas de correlação representativas.

Tabela 8: Correlação do Analisador Químico de Sangue Piccolo com método(s) comparativo(s)

	Coefficiente de correlação	Declive	Intercepção	EPE	N	Intervalo da amostra	Método comparativo
Cálcio (mg/dL)	0,991*	0,990	-0,4	0,17	25	5,2–11,9	Paramax®
	0,673	0,742	1,8	0,22	81	8,1–9,9	Beckman
Cloreto (mmol/L)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71–118	Vitros 950® Ortho
Creatinina (mg/dL)	0,993	0,926	0,0	0,15	260	0,4–14,7	Paramax®
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4–7,5	Beckman
Glicose (mg/dL)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72–422	Paramax®
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56–646	Beckman
Lactato desidrogenase (U/L)	0,994	0,983	3,8	26,3	60	44–1172	Synchron® LX20 Beckman
Magnésio (mg/dL)	0,992	0,990	0,0	0,16	44	0,8–6,8	Espectroscopia de emissão óptica atômica com acoplamento indutivo de plasma. (ICP-OES) KNA™ 2 Radiometer
Potássio (mmol/L)	0,969	0,863	0,6	0,14	58	2,0–6,8	KNA™ 2 Radiometer
Sódio (mmol/L)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116–154	KNA™ 2 Radiometer
Dióxido de carbono total (mmol/L)	0,947	0,903	2,0	0,84	60	6–39	Cobas Fara® Roche
Azoto ureico no sangue (mg/dL)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6–52	Paramax®
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6–38	Beckman

* As amostras de soro de doentes hospitalizados forneceram um intervalo da amostra mais amplo e possivelmente mais útil do que as amostras de sangue total venoso de doentes em ambulatório.. As estatísticas de correlação para o teste de cálcio Piccolo resultam destas amostras séricas.

13. Bibliografia

1. Kramer B, et al. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. J Biol Chem 1921; 47 : 475-481.
2. Clark EP, et al. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. J Biol Chem 1925; 63 : 461-464.
3. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. J. Biol Chem 1937; 118 : 539-544.
4. Cali, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In : Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 8. Cooper GR, ed. Washington, DC : American Association for Clinical Chemistry. 1977 : 3-8.
5. Kessler G, et al. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964; 10 : 686-703.
6. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971; 53 : 194-198.
7. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. Ann NY Acad Sci 1978; 307 : 86-112.
8. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. Clin Chem 1988; 34 : 552-3.
9. Knoll VE, et al. Spezifische Kreatininbetimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970; 8 : 582-587.
10. Haeckel R, et al. Simplified Determinations of the “True” Creatinine Concentration In Serum And Urine. J Clin Chem Clin Biochem. 1980; 18 : 385-394.
11. Moss GA, et al. Kinetic Enzymatic Method For Determining Serum Creatinine. 1975; 21 : 1422-1426.

13. Bibliografia (continuação)

12. Jaynes PK, et al. An Enzymatic, Reaction-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. 1982; 28 : 114-117.
13. Fossati P, et al. Enzymatic Creatinine Assay : A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. 1983; 29 : 1494-1496.
14. Whelton A, et al. Nitrogen Metabolites and Renal Function. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : W.B. Saunders Company. 1994 : 1513-1575.
15. Folin O, et al. A system of blood analysis. J Biol Chem. 1919; 38 : 81-110.
16. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. 1937; 117 : 771-776.
17. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol. 1944; 153 : 375-380.
18. Kaplan LA. Glucose. In : Clinical Chemistry : Theory, Analysis, and Correlation, 2nd Ed. LA Kaplan and AJ Pesce, eds. St. Louis : The C.V. Mosby Company. 1989 : 850-856.
19. Wacker WEC, Ulmer DD, Vallee BL. Metalloenzymes and myocardial infarction. New England journal of medicine, 1956; 225 : 449-3.
20. Tabata M, et al. Direct Spectrophotometry of magnesium in serum after reaction with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. Clin Chem 1985; 31 : 703-5.
21. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem 1989; 35 : 817-20.
22. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. Clin Chem 1994; 40 : 846-7.
23. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. Clin Chem 1994; 40 : 1528-31.
24. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc 1989; 111 : 6339-50.
25. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem 1988; 34 : 1709-12.
26. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem 1988; 34 : 2295-8.
27. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. Am J. Clin Pathol 1960; 33 : 181-5.
28. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. In : Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2nd Ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis : The CV Mosby Company. 1989 : 869-72.
29. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In : Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds., Washington, DC. : American Association for Clinical Chemistry. 1982 : 365-373.
30. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem, 1914; 19 : 211-228.
31. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol, 1960; 13 : 156-159.
32. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem, 1962; 8 : 130-132.
33. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut and Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensch, 1965; 43 : 174-175.
34. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta. 1971; 35 : 33-37.
35. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem. 1977; 49 : 464-469.
36. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum : optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem. 1980; 26 : 816-826.
37. Schembri CT, et al. Centrifugation and capillarity integrated into a multiple analyte whole blood analyser. J Automatic Chem 1995; 17 : 99-104. (journal's name changed in 2000 to J Automated Methods & Management in Chemistry).
38. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA : NCCLS, 1992.
39. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : WB Saunders Company. 1999 : 1058-9.
40. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : WB Saunders Company. 1999 : 1065-6.

13. Bibliografia (continuação)

41. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA : NCCLS, 1986.
42. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd Ed. Washington, DC : AACC Press, 1990.
43. Benet LZ, Williams RI. Design and optimization of dosage regimens : pharmacokinetic data. In : Goodman And Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 8th Ed. Gilman AG, et al., eds. New York : Mcgraw-Hill, Inc., 1990 : 1650-735.
44. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : WB Saunders Company. 1999 : 617-721.
45. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. In : Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd Ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia : WB Saunders Company. 1999 : 1788-1846.
46. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. NCCLS Document C28-A2. Wayne, PA : NCCLS, 2000.
47. Bowers GN. Lactic dehydrogenase. In : Standard Methods of Clinical Chemistry, Vol 4. Seligson D, ed. New York : Academic Press. 1963 : 163-172.
48. Siest G, et al. Plasma enzymes—physiological and environmental variations. In : Reference Values in Human Chemistry. Siest G, ed. New York : Karger. 1973 : 28-38.
49. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A2. Wayne, PA : NCCLS, 1999.
50. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA : NCCLS, 1999.
51. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA : NCCLS, 1995.