

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

REF	A11A01639
REAGENT 1	29,5 mL
REAGENT 2	9,8 mL



HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE

■ Pentra C200

Reagente de diagnóstico para a determinação quantitativa *in-vitro* da Bilirrubina Total no soro ou plasma por colorimetria.

Instruções do teste

Soro, plasma: TBIL

01.xx

Utilização

O reagente **ABX Pentra Bilirubin, Total CP** destina-se à determinação diagnóstica quantitativa *in vitro* da bilirrubina total no soro e plasma humanos, com base num teste fotométrico utilizando 2,4-dicloroanilina (DCA). Utilização em laboratórios clínicos.

As medições dos níveis de bilirrubina (direta ou total), um composto orgânico formado durante a destruição normal ou anormal dos eritrócitos, são utilizada para ajudar no diagnóstico e na monitorização de perturbações hepáticas, sanguíneas e metabólicas.

Interesse clínico (1, 2)

A bilirrubina é um produto resultante da decomposição da hemoglobina. A bilirrubina livre, não conjugada, é extremamente não polar e praticamente insolúvel na água, formando assim um complexo com albumina para o transporte no sangue desde o baço até ao fígado. No fígado, a bilirrubina é conjugada com ácido glucorónico e os glucoronídeos resultantes da bilirrubina solúvel em água são excretados através dos canais colédocos.

A hiperbilirrubinemia pode ser causada pela produção aumentada de bilirrubina devido à hemólise (icterícia pré-hepática), por lesões do parênquima hepático (icterícia intra-hepática) ou por oclusão dos canais colédocos (icterícia pós-hepática). Uma hiperbilirrubinemia congénita crónica (predominantemente não conjugada), denominada síndrome de Gilbert, é muito frequente na população. Níveis elevados de bilirrubina total são

observados em 60-70% dos neonatos devido a uma decomposição de eritrócitos aumentada pós-parto e devido à função retardada das enzimas para a degradação da bilirrubina. Os métodos habituais de detecção da bilirrubina detectam tanto a bilirrubina total como a bilirrubina directa. As determinações da bilirrubina directa medem principalmente a bilirrubina conjugada, solúvel em água. A bilirrubina não conjugada pode, por conseguinte, ser estimada como a diferença entre a bilirrubina total e a bilirrubina directa.

Método (3)

Teste fotométrico utilizando 2,4-dicloroanilina (DCA). A bilirrubina directa em presença da 2,4-dicloroanilina diazotizada forma um composto azotado de cor vermelha em solução acidica. Uma mistura específica de detergentes permite uma determinação segura da bilirrubina total.

Reagentes

ABX Pentra Bilirubin, Total CP está pronto a utilizar.

Reagente 1:

Tampão fosfato	50 mmol/L
NaCl	150 mmol/L

Reagente 2:

Sal de 2,4-Diclorofenil-diazónio	5 mmol/L
HCl	130 mmol/L

ABX Pentra Bilirubin, Total CP deve ser utilizado de acordo com esta nota informativa. O fabricante não se responsabiliza pelo seu desempenho caso seja utilizado de outro modo.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

Preparação

1. Retire as duas tampas da cassette.
2. Em caso de formação de espuma, retire-a com uma pipeta de plástico.
3. Coloque a cassette no compartimento de refrigeração de reagentes.

Calibrador

Para calibrar, utilize:

ABX Pentra Multical (A11A01652) (não incluído)
10 x 3 mL (liofilizado)

Controlo

Para controlo de qualidade interno, utilize:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (não incluído)
10 x 5 mL (liofilizado)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (não incluído)
10 x 5 mL (liofilizado)

Cada controlo deve ser analisado diariamente e/ou após a calibração.

A frequência dos controlos e os intervalos de confiança devem estar de acordo com as normas laboratoriais e com as diretivas específicas de cada país. Deve cumprir as diretrizes federais, estaduais e locais relativamente ao teste de controlo de qualidade dos materiais. Os resultados devem ficar dentro do intervalo dos limites de confiança definidos. Cada laboratório deve estabelecer o procedimento a seguir se os resultados excederem esses limites de confiança.

Materiais necessários mas não fornecidos

- Analisador automático de química clínica: Pentra C200
- Calibrador: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Controlos:
 - ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)
 - ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Equipamento standard de laboratório.

Amostra

A população de testes pretendida para este dispositivo é a população geral.

- Soro.
- Plasma em heparina de lítio.

Os anticoagulantes que não estão presentes na lista não foram testados pela HORIBA Medical e, portanto, não são recomendados para utilização com este ensaio.

Estabilidade (1, 4):

- A 20-25°C: 1 dia
- A 4-8°C: 7 dias
- A -20°C: 6 meses (se imediatamente congelada)

Congelar apenas uma vez!

Eliminar as amostras contaminadas.

É muito importante armazenar a amostra ao abrigo da luz! No caso de irradiação solar intensa: reduzir o total de bilirrubina em até 30% depois de 1 hora.

Intervalo de referência ^a (1)

Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios intervalos de referência. Os valores aqui fornecidos são utilizados apenas como linhas de orientação.

	[mg/dL]	[µmol/L]
Adultos:	0,1 - 1,2	1,7 - 21

Sensibilidade e especificidade clínicas, valores preditivos positivo e negativo não são comumente relatados para este analito. Isto é amplamente atribuído ao facto de que este analito não é o único indicador para o propósito pretendido e para a tomada de decisões de tratamento do paciente. Para se chegar a um diagnóstico e a um curso de tratamento, os resultados de outros testes clínicos químicos de rotina devem ser utilizados em conjunto com outras informações de diagnóstico além da avaliação do estado do paciente pelo profissional de saúde que o assiste.

Armazenamento e Estabilidade

Estabilidade antes da abertura:

Estável até à data de vencimento marcada na etiqueta, se armazenado a 2-8°C.

Estabilidade após abertura:

Consulte o parágrafo "Desempenho do Pentra C200".

^aModificação: alteração do intervalo de referência.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

Não congelar.

Gestão de resíduos

É favor consultar os requisitos da legislação local.

Precauções gerais

- Este reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro* profissional.
Para utilização laboratorial.
- Sujeito a prescrição.
- Este reagente é classificado como perigoso de acordo com a regulamentação (EC) N.º.1272/2008.
- **Reagente 1 e 2 (R1 e R2):**
Perigo
H290: Pode ser corrosivo para os metais.
H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
H318: Provoca lesões oculares graves.
P234: Conservar unicamente no recipiente de origem.
P260: Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.
P264: Lavar as mãos cuidadosamente após manuseamento.
P280: Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.
P301 + P330 + P331: EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito.
P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche.
P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração.
P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.
P310: Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
P390: Absorva o derramamento para não danificar o material.
P405: Armazenar em local fechado à chave.
P501: Descartar o conteúdo e os recipientes de acordo com todas as regulamentações locais, regionais, nacionais e internacionais.

- **Reagente 1 (R1):**
H400: Muito tóxico para os organismos aquáticos.
H412: Nocivo para organismos aquáticos com efeitos de longa duração.
P273: Evitar a libertação para o ambiente.
P391: Recolher o produto derramado.
Contém: Ácido clorídrico e Brometo de cetrimónio.
- **Reagente 2 (R2):**
Contém: Ácido clorídrico e Dodecano-1-ol, etoxilado.
- A utilização de amostras de neonatos não foi avaliada com este ensaio.
- Cumpra as normas preventivas de laboratório relativas à utilização.
- As cassetes de reagente são descartáveis e devem ser eliminadas de acordo com os requisitos da legislação local.
- Consulte a MSDS (folha de dados de segurança do material) relacionada com o reagente.
- Não utilizar o produto se houver evidência visível de deterioração biológica, química ou física.
- Não utilize o produto se as condições de armazenamento recomendadas, incluindo a temperatura, não forem respeitadas.
- O utilizador deve ser treinado por um representante da HORIBA Medical antes de utilizar o dispositivo.
- É da responsabilidade do utilizador verificar se este documento se aplica ao reagente utilizado.
- Para obter assistência técnica, ligue para o número +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualquer incidente grave resultante da utilização do dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do país onde o utilizador e/ou o paciente são residentes.

Desempenho do Pentra C200

Variabilidade de lote para lote ^b

A recuperação de amostras (soro e plasma) feita durante a libertação do CQ de três lotes consecutivos de reagente mostra que a variabilidade de lote para lote está dentro das especificações.

Valor da amostra	Especificação
< 20 µmol/L	< 2 µmol/L
> 20 µmol/L	< 10%

Soro, plasma

Os dados de desempenho indicados a seguir foram obtidos no analisador Pentra C200.

^bModificação: especificação de variabilidade de lote para lote adicionada.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

Número de testes: aproximadamente 130 testes

Estabilidade dos reagentes no sistema

Depois de aberta, a cassete de reagente colocada no compartimento de refrigeração Pentra C200 mantém-se estável durante 30 dias.

Volume da amostra: 3 µL/teste

Limite de deteção

O limite de deteção é determinado de acordo com o protocolo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (5) e é igual a 0,87 µmol/L (0,05 mg/dL).

Limite de quantitação

O limite de quantitação é determinado de acordo com o protocolo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (5) e é igual a 2,9 µmol/L (0,17 mg/dL).

Exatidão e Precisão

Repetibilidade (precisão no mesmo ciclo)

A repetibilidade é determinada de acordo com as recomendações incluídas no protocolo Valtec (6) com amostras testadas 20 vezes:

- 2 controlos
- 3 amostras (níveis baixo / médio / elevado)

	Valor médio µmol/L	Valor médio mg/dL	CV %
Amostra de controlo 1	17,4	1,0	2,35
Amostra de controlo 2	91,4	5,4	0,50
Amostra 1	15,9	0,9	1,33
Amostra 2	55,6	3,3	0,94
Amostra 3	191,3	11,2	1,97

Reprodutibilidade (precisão total)

A reprodutibilidade é determinada de acordo com as recomendações incluídas no protocolo CLSI (NCCLS), EP5-A2 (7) com amostras testadas em duplicado durante 20 dias (2 séries por dia):

- 2 controlos
- 3 amostras (níveis baixo / médio / elevado)

	Valor médio µmol/L	Valor médio mg/dL	CV %
Amostra de controlo 1	17,6	1,0	5,63
Amostra de controlo 2	91,5	5,4	2,78
Amostra 1	15,9	0,9	4,44
Amostra 2	54,8	3,2	3,52
Amostra 3	193,1	11,3	2,93

Intervalo de medição

O ensaio confirmou uma gama de medição de 2,9 µmol/L (0,2 mg/dL) a 450,0 µmol/L (26,3 mg/dL). A gama de medição estende-se a até 1350,0 µmol/L (79,0 mg/dL) com a pós-diluição automática. A linearidade do reagente foi avaliada até 450,0 µmol/L (26,3 mg/dL), de acordo com as recomendações do protocolo CLSI (NCCLS), EP06 - Ed2 (8).

Correlação

Amostras de paciente: Soro

Número de amostras de paciente: 98

As amostras estão correlacionadas com um reagente comercial tomado como referência de acordo com as recomendações do protocolo CLSI (NCCLS), Ep09c (9). Intervalo de valores de 3,01 µmol/L (0,18 mg/dL) a 427,28 µmol/L (25,00 mg/dL).

$$Y = 0,9784 X - 0,08072 \text{ (µmol/L)}$$

$$Y = 0,9784 X - 0,00472 \text{ (mg/dL)}$$

com um coeficiente de correlação $r^2 = 0,989$.

Interferências ^c

Hemoglobina: Não se observa influência significativa até 263 µmol/L (453 mg/dL).

Triglicéridos: Não se observa influência significativa até uma concentração de triglicéridos de 5,54 mmol/L (484,75 mg/dL).

Ácido ascórbico: Não se observa influência significativa até 340 µmol/L (5,98 mg/dL).

Ibuprofeno: Não se observa influência significativa até 2,43 mmol/L (50,10 mg/dL).

Acetaminofeno: Não se observa influência significativa até 1324 µmol/L (20 mg/dL).

^cModificação: alteração de interferências.

ABX Pentra Bilirubin, Total CP

Ácido acetilsalicílico:	Não se observa influência significativa até 3,62 mmol/L (65 mg/dL).
Ímina n-acetil-p-benzoquinona (NAPQI):	Não se observa influência significativa até 250 µmol/L (3,73 mg/dL).
Eltrombopag:	Não se observa influência significativa até 30 mg/dL.

Outros limites são fornecidos por Young através de uma lista de medicamentos e variáveis pré-analíticas conhecidas que afectam esta metodologia (10, 11).

Estabilidade de calibração

O reagente é calibrado no Dia 0. A estabilidade de calibração é verificada testando 2 amostras de controlo. A estabilidade da calibração é de 13 dias.

Nota: Recomenda-se uma recalibração quando os lotes de reagente mudam e quando os resultados do controlo de qualidade ficam fora do intervalo de valores estabelecido.

Fator de conversão

$\mu\text{mol/L} \times 0,585 = \text{mg/L}$

$\mu\text{mol/L} \times 0,0585 = \text{mg/dL}$

Referência

1. Thomas L. ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft (1998): 192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company (1999): 1125-1177.
3. Rand RN, Di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin. Chem. (1962) **6**: 570-8.
4. Use of Anticoagulants in diagnostics laboratory investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 (2002): 24.
5. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
6. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
7. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
8. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
9. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
10. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
11. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.

