

REF A11A01635

REAGENT 1 24 mL

REAGENT 2 7 mL



IVD CE

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



# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## ■ Pentra C400

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

### Instruções do teste

#### Soro, plasma: Bili-D

1.xx

#### Utilização <sup>a</sup>

**ABX Pentra Bilirubin, Direct CP** destina-se à determinação diagnóstica quantitativa *in vitro* da bilirrubina direta no soro e plasma humanos, com base num teste fotométrico utilizando 2,4-dicloroanilina (DCA). As medições dos níveis de bilirrubina (direta ou total), um composto orgânico formado durante a destruição normal e anormal das hemáceas, são utilizadas no diagnóstico e tratamento de distúrbios hepáticos, hemolíticos, hematológicos e metabólicos, incluindo hepatite e obstrução da vesícula biliar.

#### 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 ácida.

#### Reagentes

O **ABX Pentra Bilirubin, Direct CP** está pronto a utilizar.

##### Reagente 1:

EDTA-Na <sub>2</sub>	0,1 mmol/L
NaCl	150 mmol/L
Ácido sulfâmico	100 mmol/L

##### Reagente 2:

2,4-Diclorofenil-sal de diazónio	0,5 mmol/L
HCl	900 mmol/L
EDTA-Na <sub>2</sub>	0,13 mmol/L

<sup>a</sup>Modificação: novo formato do folheto.

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

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

## Preparação

1. Retire as duas tampas da cassette.
2. Em caso de formação de espuma, retire-a com uma pipeta de plástico.
3. Posicione a tampa de proteção (GBM0969) na cassette.
4. 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 <sup>b</sup>

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 <sup>b</sup>

- Analisador automático de química clínica: Pentra C400

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

## Amostra <sup>c</sup>

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 (4, 5, 1)

- A 20-25°C: 2 dias
- A 4-8°C: 7 dias
- A -20°C: 6 meses (em caso de congelamento imediato)

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. Congelar apenas uma vez.

## Intervalo de referência (1) <sup>d</sup>

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

**Adultos e crianças:**  $\leq 0,2$  mg/dL ( $\leq 3,4$   $\mu$ mol/L).

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 alm da avaliação do estado do paciente pelo profissional de saúde que o assiste.

<sup>b</sup>Modificação: controlo removido.

<sup>c</sup>Modificação: modificação de "Amostra".

<sup>d</sup>Modificação: informação adicionada.

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## 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 C400".

Não congelar.

## Gestão de resíduos

É favor consultar os requisitos da legislação local.

## Precauções gerais <sup>e</sup>

- 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.
- **Cuidado**  
**H290:** Pode ser corrosivo para os metais.  
**P234:** Conservar unicamente no recipiente de origem.  
**P390:** Absorva o derramamento para não danificar o material.  
**P406:** Armazenar num recipiente resistente à corrosão com um revestimento interior resistente.
- 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 C400

### Variabilidade de lote para lote <sup>f</sup>

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.

### Soro, plasma

Os dados de desempenho enunciados em seguida representam o desempenho nos sistemas HORIBA Medical.

**Número de testes:** 100 testes

### Estabilidade dos reagentes no sistema

Depois de aberta, a cassete de reagente colocada no compartimento de refrigeração Pentra C400 mantém-se estável durante 30 dias.

**Volume da amostra:** 25 µL/teste

### Limite de deteção <sup>g</sup>

O limite de deteção é determinado de acordo com o protocolo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (6) e é igual a 0,41 µmol/L (0,02 mg/dL).

### Limite de quantitação <sup>h</sup>

O limite de quantitação é determinado de acordo com o protocolo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (6) e é igual a 2,70 µmol/L (0,16 mg/dL).

<sup>e</sup>Modificação: modificação das precauções gerais.

<sup>f</sup>Modificação: capítulo adicionado.

<sup>g</sup>Modificação: modificação do limite de deteção.

<sup>h</sup>Modificação: dados adicionados.

# ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

## Exatidão e Precisão

### Repetibilidade (precisão no mesmo ciclo)

A repetibilidade é determinada de acordo com as recomendações incluídas no protocolo Valtec (7) 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	15,33	0,90	0,67
Amostra de controlo 2	31,64	1,85	0,44
Amostra 1	4,01	0,23	3,23
Amostra 2	25,92	1,52	0,59
Amostra 3	134,63	7,88	2,69

### Reprodutibilidade (precisão total)

A reprodutibilidade é determinada de acordo com as recomendações incluídas no protocolo CLSI (NCCLS), EP5-A2 (8) com amostras testadas em duplicado durante 20 dias (2 séries por dia):

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

	Valor médio µmol/L	Valor médio mg/dL	CV %
Amostra de controlo 1	16,0	0,94	4,26
Amostra de controlo 2	34,9	2,02	4,22
Amostra 1	11,7	0,69	3,27
Amostra 2	65,4	3,83	2,98

### Intervalo de medição<sup>i</sup>

O ensaio confirmou uma gama de medição de 2,7 µmol/L (0,16 mg/dL) a 116,0 µmol/L (6,79 mg/dL).

A gama de medição estende-se a até 580 µmol/L (33,90 mg/dL) com a pós-diluição automática.

A linearidade do reagente foi avaliada até 116,0 µmol/L (6,79 mg/dL), de acordo com as recomendações do protocolo CLSI (NCCLS), EP06 - Ed2 (9).

### Correlação<sup>j</sup>

Amostras de paciente: Soro e plasma

Número de amostras de paciente: 92

As amostras estão correlacionadas com um reagente comercial tomado como referência de acordo com as recomendações incluídas no protocolo CLSI (NCCLS), EP09c (10).

Intervalo de valores de 2,75 µmol/L (0,16 mg/dL) a 115,13 µmol/L (6,74 mg/dL).

A equação da linha alométrica obtida por meio do procedimento de regressão Passing-Bablok (11) é:

$$Y = 1,026 X + 1,3 \text{ (µmol/L)}$$

$$Y = 1,026 X + 0,076 \text{ (mg/dL)}$$

com um coeficiente de correlação  $r^2 = 0,992$ .

### Interferências<sup>k</sup>

Hemoglobina: Não utilizar amostras hemolisadas.  
Triglicéridos: Não se observa influência significativa até uma concentração de triglicéridos de 4,51 mmol/L (395 mg/dL).

Imina n-acetil-p-benzoquinona (NAPQI): Não se observa influência significativa até 125 µmol/L (1,86 mg/dL).

Eltrombopag: Não utilizar este ensaio se o paciente estiver em tratamento com Eltrombopag.

Outros limites são fornecidos por Young através de uma lista de medicamentos e variáveis pré-analíticas conhecidas que afectam esta metodologia (12, 13).

### 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 10 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. 1<sup>st</sup> ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft (1998): 192-202.

<sup>i</sup>Modificação: alteração do intervalo de medição.

<sup>j</sup>Modificação: alteração da correlação.

<sup>k</sup>Modificação: alteração de interferências.

## ABX Pentra Bilirubin, Direct CP

2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis C.A., Ashwood E.R., editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> 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. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1<sup>st</sup> ed. Darmstadt: GIT Verlag, (2001): 18-19.
5. Use of Anticoagulants in diagnostics laboratory investigations. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 (2002): 24.
6. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2<sup>nd</sup> ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
7. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
8. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
9. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2<sup>nd</sup> Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).
10. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3<sup>rd</sup> ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
11. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-720.
12. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4<sup>th</sup> Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 143-163.
13. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2<sup>nd</sup> Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.

