

Piccolo[®] Lipid Panel



Para uso diagnóstico *in vitro*
e apenas para uso profissional
Atendimento ao cliente e técnico: 1-800-822-2947
Clientes fora dos EUA: +49 6155 780 210

Aplicável apenas para clientes americanos
CLIA dispensada: use sangue total com heparina de lítio, apenas com complexidade moderada: use sangue total com heparina de lítio, plasma ou soro com heparina de lítio



Abaxis Inc.
3240 Whipple Rd.
Union City, CA 94587
USA



ABAXIS Europe GmbH
Bunsenstr. 9-11
64347 Griesheim
Germany

1. Aplicação

O Disco de Reagente do Piccolo[®] Lipid Panel, utilizado com o Analisador Químico de Sangue Piccolo[®] ou o Analisador Químico Piccolo Xpress[®], destina-se a ser utilizado para a determinação quantitativa *in vitro* de colesterol total (CHOL), colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidade (HDL) e triglicéridos (TRIG) em amostra de sangue total capilar (picada no dedo) heparinizado com lítio, sangue total venoso heparinizado com lítio, plasma heparinizado com lítio ou soro em laboratórios clínicos ou locais de prestação de cuidados. A partir destas determinações, são calculados pelo analisador o colesterol ligado a lipoproteínas de baixa densidade (LDL), o colesterol ligado a lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), o colesterol não HDL e a relação entre colesterol total/lipoproteínas de alta densidade (TC/H).

As medições de lípidos são utilizadas no diagnóstico e tratamento de distúrbios lipídicos e de lipoproteínas, aterosclerose, várias doenças hepáticas e renais, diabetes mellitus e outras patologias que envolvem o metabolismo lipídico ou diversos distúrbios endócrinos.

Apenas para clientes nos EUA

Este teste está dispensado ao abrigo dos regulamentos CLIA de 1988. Se um laboratório modificar as instruções do sistema de testes, este teste é considerado de elevada complexidade e está sujeito a todos os requisitos CLIA. Nos laboratórios com dispensa dos critérios CLIA, apenas pode ser testado sangue total com heparina de lítio (venoso ou capilar). Em laboratórios de complexidade moderada, é possível utilizar sangue total heparinizado com lítio, plasma heparinizado com lítio ou soro.

É necessário um Certificado de Dispensa dos Critérios CLIA para realizar testes com dispensa dos critérios CLIA. É possível obter um Certificado de Dispensa junto dos Centros de Serviços Medicare e Medicaid (CMS). Contacte o Serviço de Assistência Técnica da Abaxis através do número (800) 822-2947 para saber como obter um Certificado.

2. Resumo e explicação dos testes

Relevância clínica

A medição de lípidos e lipoproteínas no soro é útil para caracterizar o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) de um indivíduo e para monitorizar intervenções terapêuticas.¹ O Programa Nacional de Educação para o Colesterol (EUA) forneceu directrizes consensuais para a medição e pontos de corte para a interpretação.^{2,3,4}

Os lípidos circulantes são transportados em lipoproteínas. A fracção LDL, o principal contribuinte de lipoproteínas para o desenvolvimento da aterosclerose e cujo tratamento tem sido conclusivamente demonstrado como eficaz, transporta a maioria do colesterol que circula no sangue. O colesterol total no soro é medido há vários anos para quantificar a quantidade total de lipoproteínas enquanto método prático de avaliação do risco de DCV. No entanto, algum do colesterol é transportado em partículas de HDL, que são anti-aterogénicas ou inversamente associadas ao risco de desenvolvimento de DCV. Assim, a quantificação das principais lipoproteínas individuais transportadoras de colesterol, a LDL e a HDL, permite uma melhor avaliação do risco global.

Os triglicéridos, o principal combustível do organismo, são transportados para a corrente sanguínea em lipoproteínas grandes designadas por quilomicra (CM). As partículas de VLDL também transportam triglicéridos, sintetizados sobretudo no fígado a partir do excesso de ácidos gordos. Na circulação, os triglicéridos são hidrolisados e os respectivos ácidos gordos são transportados para células periféricas, deixando partículas residuais, precursoras da LDL. Após uma noite de jejum, os quilomicra são normalmente eliminados da circulação. Os níveis elevados de triglicéridos medidos numa amostra colhida em jejum indicam uma deficiência de

depuração ou sobreprodução, que pode aumentar o risco de desenvolvimento de DCV, tornando a sua medição útil para a caracterização de doenças metabólicas e do risco global.

O Instituto Nacional de Coração, Pulmões e Sangue dos EUA organizou o Programa Nacional de Educação para o Colesterol (National Cholesterol Education Program, NCEP), que reuniu um painel de especialistas para desenvolver directrizes clínicas para a classificação e o tratamento do colesterol elevado. As recomendações mais recentes, as directrizes do Terceiro Painel de Tratamento de Adultos,^{2,3,4} servem de base para as decisões de tratamento sobretudo nos níveis de LDL, calculados como parte do painel lipídico após a medição do colesterol total, da HDL e dos triglicéridos. Os pontos de corte de LDL de 100, 130, 160 e 190 mg/dL definem as categorias de risco ideal, quase ideal, próximo do limite máximo, elevado e muito elevado. Um valor de HDL abaixo de 40 mg/dL é baixo, considerado como um factor de risco pelo ATPIII, modificando o objectivo de tratamento da LDL. Um valor de HDL acima de 60 mg/dL é definido como elevado, considerado desejável e um factor de risco negativo, subtraindo-se ao número total de factores de risco na selecção do objectivo de tratamento da LDL apropriado. Para os triglicéridos, os pontos de corte de 150, 200 e 500 mg/dL definem os níveis normal, próximo do limite máximo, elevado e muito elevado. Além disso, o colesterol não-HDL ótimo calculado deve ser < 130 mg/dl, com risco de doença cardiovascular aumentado associado com concentrações de 130 a 189 mg/dl, e risco elevado de doença cardiovascular (DCV) associado a valores > 189 mg/dl.

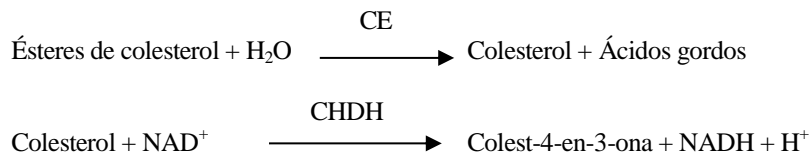
Os ensaios de Colesterol Total e HDL Piccolo cumpriram os requisitos para certificação de exactidão e precisão da Rede de Laboratórios de Método de Referência para o Colesterol (Cholesterol Reference Method Laboratory Network, CRMLN), que é coordenada pelos Centros para Controlo de Doenças. O processo de certificação avalia a exactidão da calibração do método e a precisão, ajudando a garantir uma classificação de doentes fiável baseada nos pontos de corte do NCEP.

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. Princípios dos procedimentos

Colesterol total (CHOL)

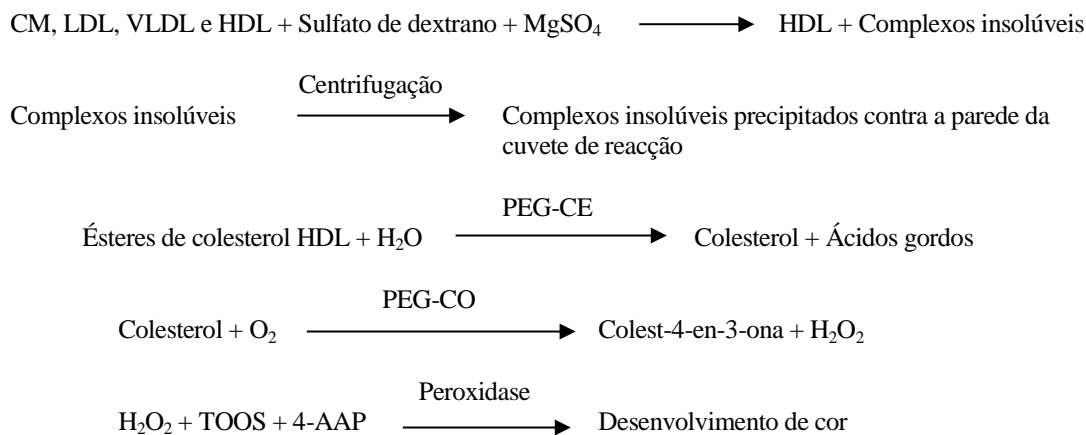
O ensaio CHOL da Abaxis consiste num método de ponto final enzimático que utiliza a colesterol esterase (CE) e a colesterol desidrogenase (CHDH).⁵



A CE hidrolisa os ésteres de colesterol para formar colesterol e ácidos gordos. A reacção da CHDH converte colesterol em colest-4-en-3-ona. O NADH é medido bicromaticamente a 340 nm e 405 nm. A produção de NADH é directamente proporcional à quantidade de colesterol presente. Um branco específico do ensaio é igualmente monitorizado para garantir que nenhuma reacção exterior interfere com os cálculos dos níveis de CHOL.

Colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidade (HDL)

O ensaio de HDL da Abaxis consiste num método de precipitação que utiliza colesterol esterase (PEG-CE) e colesterol oxidase (PEG-CO) modificadas por polietileno glicol para permitir uma especificidade adicional.⁶ O mecanismo da reacção é o seguinte:

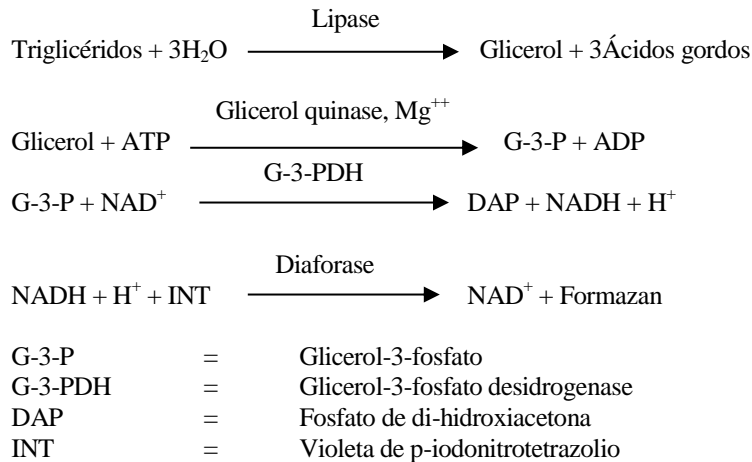


TOOS = N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilnilina, sal sódico, dihidratado
 4-AAP = 4-aminoantipirina

Os agentes precipitantes, sulfato de dextrano e sulfato de magnésio (MgSO₄) especificamente, formam complexos insolúveis com quilomicra (CM), VLDL e LDL em plasma ou soro. Os complexos insolúveis são precipitados na parede da cuvete de reacção no interior do analisador. A HDL restante é hidrolisada por PEG-CE de modo a criar colesterol e ácidos gordos. O colesterol reage com a PEG-CO para produzir colest-4-en-3-ona e peróxido (H₂O₂). A reacção de peroxidase resulta na produção de um produto de cor púrpura com um valor máximo de absorvância de 550 nm e referenciado para absorvância a 630 nm. A concentração de colesterol HDL é directamente proporcional ao valor máximo de absorvância nesta reacção de ponto final. Um branco de amostra é igualmente monitorizado para garantir que nenhuma reacção exterior interfere com os cálculos dos níveis de HDL.

Triglicéridos (TRIG)

O ensaio de TRIG da Abaxis consiste num método de ponto final enzimático que utiliza quatro enzimas.^{7,8} O mecanismo da reacção é o seguinte:



No primeiro passo, os triglicéridos são hidrolisados em glicerol e ácidos gordos numa reacção catalisada por lipase. Em seguida, o glicerol é fosforilado numa reacção que exige ATP catalisada pela glicerol quinase (GK). O glicerolfosfato é então oxidado em fosfato de di-hidroxiacetona com a redução simultânea de NAD⁺ em NADH numa reacção catalisada pela glicerol-3-fosfato desidrogenase (G-3-PDH). O NADH é então oxidado com a redução simultânea de INT numa reacção catalisada pela diaforase. A intensidade do formazan extremamente colorido é medida bicromaticamente a 500 nm e 850 nm e é directamente proporcional à concentração de triglicéridos presente na amostra. Um branco específico do ensaio é igualmente monitorizado para garantir que nenhuma reacção exterior interfere com os cálculos dos níveis de TRIG. Os resultados fornecem uma medida dos triglicéridos totais sem um branco de glicerol.

LDL (calculada)

O Analisador Piccolo ou o Analisador Piccolo Xpress calcula automaticamente a concentração de LDL em cada amostra utilizando os valores directamente determinados para colesterol total, HDL e triglicéridos e a equação de Friedewald padrão.⁹ Esta equação não é válida para concentrações de triglicéridos superiores a 400 mg/dL, doentes que não estejam em jejum e doentes com hiperproteínemia Tipo III (disbetalipoproteinémia).^{9,10} Um valor de LDL não é incluído no relatório para amostras com concentrações de triglicéridos superiores a 400 mg/dL ou se algum dos valores dos analitos medidos directamente não estiver disponível. No cartão impresso, o valor calculado para LDL é seguido de um "C" para indicar que é calculado.

VLDL (calculada)

O Analisador Piccolo ou o Analisador Piccolo Xpress calcula automaticamente a concentração de VLDL em cada amostra utilizando a equação de triglicéridos/5 padrão (se as unidades estiverem em mg/dL).⁹ Esta equação não é válida para concentrações de triglicéridos superiores a 400 mg/dL, doentes que não estejam em jejum e doentes com hiperlipoproteinémia Tipo III (disbetalipoproteinémia).^{9,10} Obviamente, nenhum valor de VLDL é calculado se não estiver disponível um valor de triglicéridos. No cartão impresso, o valor calculado para VLDL é seguido de um "C" para indicar que é calculado.

Relação colesterol total/HDL (calculada)

O Analisador Piccolo ou o Analisador Piccolo Xpress calcula automaticamente a relação entre colesterol total/HDL (abreviada como TC/H) para cada amostra. Se o valor de colesterol total ou HDL medido directamente estiver em falta, não será fornecida qualquer relação. No cartão impresso, o valor calculado para TC/H é seguido de um "C" para indicar que é calculado.

Não HDL (calculado) - disponível apenas no analisador Xpress

O Analisador Piccolo Xpress calcula automaticamente o colesterol não-HDL (abreviado como nHDLc) de cada amostra. O nHDLc é calculado subtraindo o colesterol HDL do colesterol total (CHOL). Na fita de resultado, o valor calculado para o nHDLc é seguido por um "C" para indicar que está calculado. Se o colesterol total medido diretamente (CHOL) ou o valor de HDL estiverem faltando, o nHDLc não pode ser calculado.

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.¹¹

5. Descrição dos reagentes

Reagentes

Cada Disco de Reagente do Piccolo Lipid Panel contém esferas de reagente secas específicas do teste (descritas abaixo). É incluída em cada disco uma esfera de reagente de branco de amostra seca (composta por tampão, surfactantes, excipientes e conservantes) para utilização no cálculo de concentrações de HDL. São incluídas no disco esferas de branco dedicadas para calcular as concentrações de CHOL e TRIG. Cada disco contém ainda um diluente composto por um surfactante e conservantes.

Tabela 1: Reagentes

| Componente | Quantidade/Disco |
|--|------------------|
| 4-aminoantipirina | 6,7 µg |
| Adenosina 5'-trifosfato, sal dissódico | 9,2 µg |
| Ascorbato oxidase | 0,042 U |
| Colesterol desidrogenase | 0,080 U |
| Colesterol esterase (Genzyme-N) | 0,27 U |
| Colesterol esterase (Genzyme-P) | 0,0080 U |
| Sulfato de dextrano | 8,4 µg |
| Diaforase | 0,25 U |
| N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilnilina, sal sódico, dihidratado (TOOS) | 79 µg |
| Glicerol quinase | 0,084 U |
| Glicerol-3-fosfato desidrogenase | 0,21 U |
| Cloreto de iodonitrotetrazolio (INT) | 8,4 µg |
| Lipase | 16,8 U |
| Cloreto de magnésio, hexahidratado | 8,6 µg |
| Sulfato de magnésio, heptahidratado | 197 µg |
| Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), sal monossódico | 455 µg |
| PEG-colesterol esterase | 0,013 U |
| PEG-colesterol oxidase | 0,089 U |
| Peroxidase | 0,27 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 controle 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.¹² 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. Um disco que não seja utilizado dentro de 20 minutos após a abertura da bolsa deverá ser eliminado. 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.

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 impresso no rótulo da caixa de cada bolsa. 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.

- De acordo com o ATP III^{2,3,4}, devem ser utilizadas amostras colhidas em jejum (oito a 12 horas) para determinar CHOL, HDL, TRIG e LDL. Por isso, recomenda-se vivamente que sejam utilizadas amostras em jejum com o Disco do Painel Lipídico. Se o doente não estiver em jejum, os valores de TRIG e LDL calculados não são válidos.
- O volume mínimo da amostra necessário é ~100 µL de sangue total heparinizado, plasma heparinizado, soro ou material de controlo. A câmara da amostra do disco de reagente pode conter até 120 µL de amostra.
- As amostras de sangue total por punção venosa devem ser processadas no prazo de 60 minutos após a colheita.^{13,14} A amostra pode ser separada em plasma ou soro e armazenada em tubos de amostra com tampa a 2–8 °C (36–46 °F), caso não seja possível processar a amostra no prazo de 60 minutos.
- Inicie o teste no prazo de 10 minutos após a transferência da amostra para o disco de reagente.

Notas sobre a colheita de amostras venosas:

- Para as amostras de sangue total ou de plasma, utilize apenas tubos de colheita de amostras evacuados, com ou sem separadores de gel, 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).
- As amostras de sangue total obtidas por punção venosa devem apresentar-se homogéneas antes de transferir a amostra para o disco de reagente. Inverta suavemente o tubo de colheita várias vezes imediatamente antes de transferir a amostra. Não agite o tubo de colheita; a agitação pode provocar hemólise.

Notas sobre a colheita de amostras capilares:

- É necessário utilizar técnicas de colheita de amostras capilares corretas e adequadas para obter resultados fiáveis.

- Para a colheita de sangue capilar, as mãos do paciente devem ser bem lavadas com sabonete (sem glicerina ou glicerol) e água morna. Garanta a secagem completa.
- Para a colheita de amostras capilares, é aceitável apertar cuidadosamente ao longo do dedo até ao local de punção, mas não o esprema para fazer o sangue circular, pois pode provocar hemólise excessiva.

8. Procedimento

Materiais fornecidos

- Um Disco de Reagente do Piccolo Lipid Panel, PN: 400-1025 (uma caixa de discos, PN: 400-0025)

Materiais necessários mas não fornecidos

- Analisador Químico de Sangue Piccolo ou Analisador Químico Piccolo Xpress.
- A pipeta de transferência de amostras (volume fixo de aproximadamente 100 µL) e as pontas são fornecidas com cada Analisador Químico de Sangue Piccolo ou com o Analisador Químico Piccolo Xpress e podem ser encomendadas novamente junto da Abaxis.
- Reagentes de controlo disponíveis no mercado recomendados pela Abaxis (contacte o Serviço de Assistência Técnica da Abaxis para obter mais informações sobre os materiais de controlo e os valores esperados).
- Temporizador.

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 de Reagente do Piccolo Lipid Panel é inferior a 15 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 ou do Analisador Químico Piccolo Xpress.

Controlo de qualidade

Consulte a Secção 2.4 do Manual do Operador do Analisador Piccolo ou a Secção 6 (Calibração e controlo de qualidade) do Manual do Operador do Analisador Piccolo Xpress. O desempenho do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo Xpress pode ser verificado através do processamento de controlos. Para obter uma lista dos materiais de controlo de qualidade aprovados com os intervalos de aceitação, contacte a Assistência Técnica da Abaxis. Outros controlos à base de soro humano ou plasma podem não ser compatíveis. Os materiais de controlo de qualidade devem ser armazenados de acordo com o folheto informativo incluído nos controlos.

Se os resultados de controlo estiverem fora do intervalo, repita o controlo uma vez. Se continuarem fora do intervalo, contacte a Assistência Técnica. Não inclua os resultados no relatório se os controlos estiverem fora dos limites rotulados. Consulte no Manual do Operador do Analisador Piccolo ou Piccolo Xpress uma descrição detalhada sobre o processamento, registo, interpretação e representação gráfica dos resultados de controlo.

Laboratórios abrangidos pela dispensa: A Abaxis recomenda a realização de testes de controlo conforme os seguintes parâmetros:

- pelo menos a cada 30 dias
- sempre que as condições laboratoriais tiverem sofrido alterações significativas, por exemplo, se o Analisador Piccolo tiver sido deslocado para uma nova localização ou em caso de alterações no controlo da temperatura
- nos casos em que seja indicada a formação ou renovação da formação de pessoal
- com cada novo lote (testes com dispensa dos critérios CLIA em laboratórios com o estado de dispensa)

Laboratórios não abrangidos pela dispensa: A Abaxis recomenda que os testes de controlo sigam as directrizes federais, estatais e locais.

9. Resultados

O Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo Xpress testa, calcula e imprime automaticamente as concentrações do analito na amostra. Para os resultados que sejam calculados e não determinados directamente, a LDL, VLDL e TC/H, os resultados são seguidos de um “C” para indicar que são calculados. 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.

- O único anticoagulante **recomendado para utilização** com o Analisador Químico de Sangue Piccolo ou o Analisador Químico Piccolo Xpress é a **heparina de lítio**. Não utilize heparina de sódio.
- As amostras com hematócritos com um excesso de volume de concentrado de eritrócitos de 62% podem apresentar resultados inexactos. As amostras com um nível elevado de hematócritos podem ser incluídas nos relatórios como hemolisadas. Estas amostras podem ser centrifugadas de forma a obter plasma e reprocessadas num novo disco de reagente.
- **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 ou no Analisador Químico Piccolo Xpress.**

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 esperados. 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.¹⁵

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 Sistema Químico de Sangue Piccolo ou o Sistema Químico Piccolo Xpress suprime quaisquer resultados que sejam afectados por >10% de interferência resultante de hemólise, lipémia ou icterícia. A indicação “HEM”, “LIP” ou “ICT”, respectivamente, é impressa no cartão de resultado em vez do resultado.
- Para obter mais informações sobre os níveis máximos de substâncias endógenas, contacte o Serviço de Assistência Técnica da Abaxis.

Efeitos de substâncias terapêuticas

Foram seleccionadas dezasseis substâncias terapêuticas como potencialmente interferentes para os ensaios de colesterol total, HDL e triglicéridos com base nas recomendações de Young.¹⁶ A interferência significativa define-se como um desvio no resultado >10% para uma amostra de intervalo normal. 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^{15,16} (mg/dL) | Concentração mais elevada testada (mg/dL) |
|------------------------|---|--|
| Acetaminofeno | 2–10 | 100 |
| Acetoacetato, lítio | 0,05–3,6 | 102 |
| Ácido acetilsalicílico | 1–2 | 50 |
| Ácido ascórbico | | 3 |
| Digoxina | 0,8–1,5 | 5 |
| Glutaciona | | 30 |
| Heparina, lítio | | 4,4 (800 U/dL) |
| β-hidroxitirato | 0,21–2,81 | 1.000 |
| Ibuprofeno | 0,5–4,2 | 50 |
| Isoniazida | 0,1–0,7 | 4 |
| Lactato, lítio | 6–12 | 84 |
| Lidocaína | 0,5–0,6 | 1 |
| Meticilina, sódio | | 100 |
| Fenitoína | 1–2 | 3 |
| Ácido salicílico | | 50 |
| Teofilina | 1–2 | 20 |

Nenhum dos ensaios demonstrou uma interferência significativa com as concentrações de substâncias exógenas testadas.

Tabela 3: Concentração de analitos nos pools de soro (2 níveis) utilizados para estudos de interferência de substâncias exógenas

| Analito | Concentração |
|-----------------------------|---------------------|
| Colesterol (CHOL) | 163 e 197 mg/dL |
| HDL | 39 e 52 mg/dL |
| Triglicéridos (TRIG) | 125 e 183 mg/dL |

11. Pontos de corte

O Programa Nacional de Educação para o Colesterol estabeleceu pontos de corte consensuais para os analitos de lípidos/lipoproteína da seguinte forma:^{2,3,4}

Tabela 4: Valores de decisão médica^{2,3,4}

| | Interpretação | Pontos de corte mg/dL | Pontos de corte mmol/L |
|---------------------------------|---|----------------------------------|-----------------------------------|
| Colesterol total (CHOL) | Desejável | < 200 | < 5,17 |
| | Próximo do limite máximo | 200–239 | 5,17–6,18 |
| | Elevado | ≥ 240 | 6,20 |
| HDL | HDL baixa - Factor de risco | < 40 | < 1,03 |
| | HDL elevada - Factor de risco negativo (desejável) | ≥ 60 | ≥ 1,55 |
| Triglicéridos (TRIG) | Normal | < 150 | <1,70 |
| | Próximo do limite máximo | 150–199 | 1,70–2,25 |
| | Elevado | 200–499 | 2,26–5,64 |
| | Muito elevado | ≥ 500 | ≥ 5,65 |
| LDL* | Ideal | < 100 | < 2,58 |
| | Quase ideal | 100–129 | 2,58–3,33 |
| | Próximo do limite máximo | 130–159 | 3,36–4,11 |
| | Elevado | 160–189 | 4,13–4,88 |
| | Muito elevado | ≥ 190 | ≥ 4,91 |
| VLDL (CALC) ** | Normal | < 30 | |
| | Elevado | ≥ 30 | |
| nHDLc (CALC)** | Ótimo | < 130 | < 3,37 |
| | Risco aumentado | 130–189 | 3,37-4,90 |
| | Alto risco | > 189 | > 4,90 |
| | | Homem | Mulher |
| Relação colesterol total/HDL | Baixo risco | ≤ 5 | ≤ 4,5 |
| | Risco elevado | > 5 | > 4,5 |

* O Analisador Piccolo ou Piccolo Xpress calcula a concentração de LDL utilizando a equação de Friedewald.⁹

** Para mais informações, consulte: NCEP, ATP III Report 2002, Secção II. Rationale for Intervention, 3. Other Lipid Risk Factors, Página II-7 a II-9.²

Relação colesterol total/HDL (TC/H)

A relação entre colesterol total e HDL (TC/H) é calculada para conveniência dos utilizadores. Uma relação TC/H ≤ 5 é normalmente considerada desejável para os indivíduos do sexo masculino. Uma vez que as mulheres normalmente apresentam valores de HDL mais elevados do que os homens, há quem recomende um ponto de corte de 4,5 para indivíduos do sexo feminino.¹⁷ Esta relação foi advogada por alguns especialistas como um meio simples e prático de expressar o risco de DCV num único número, incorporando o colesterol total como marcador de lipoproteínas aterogénicas no numerador e o colesterol HDL anti-aterogénico no denominador.¹ Os utilizadores devem ter em consideração que mesmo que a relação TC/H seja um forte indicador de risco de DCV, conforme demonstrado por vários estudos de epidemiologia,¹ o NCEP não recomenda a sua utilização no tratamento de doentes. As directrizes clínicas do NCEP baseiam as decisões de tratamento nas lipoproteínas individuais (Tabela 5) e consideram a utilização da relação como um possível desvio da prioridade, as medições de lipoproteínas individuais.^{2,3,4}

Colesterol não HDL (nHDLc)

O Relatório de 2002 NCEP ATP III, informou a utilidade clínica do nHDLc calculado. Os estudos demonstraram que o colesterol não-HDL apresenta uma forte correlação com a mortalidade coronária quando comparado com o colesterol LDL. Além do mais, o colesterol não-HDL está altamente correlacionado com o total da apolipoproteína B (apo-B), a apolipoproteína primária associada com as lipoproteínas aterogênicas."²

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). Esta avaliação utilizou a directriz NCCLS EP6-P2.¹⁸

Tabela 5: Intervalos dinâmicos do Analisador Piccolo

| Analito | Unidades comuns | Unidades SI |
|----------------|------------------------|--------------------|
| CHOL | 20–520 mg/dL | 0,52–13,5 mmol/L |
| HDL | 15–100 mg/dL | 0,39–2,59 mmol/L |
| TRIG | 20–500 mg/dL | 0,23–5,65 mmol/L |

Se a concentração de analitos se situar acima do intervalo de medição (intervalo dinâmico), mas for inferior ao intervalo do sistema, o cartão impresso irá indicar um sinal “>” no limite superior e um asterisco depois do número, por exemplo, CHOL >520* mg/dl. Se for inferior ao intervalo dinâmico, será impresso um “<” com um asterisco, por exemplo, CHOL <20* mg/dL. Para valores que se situem largamente fora do intervalo de medição (intervalo do sistema), será impresso “~~~~” em vez de um resultado. Sempre que “~~~~” for apresentado num cartão impresso, recolha uma nova amostra e reprocesse o teste. Se os resultados da segunda amostra forem novamente suprimidos, contacte o Serviço de Assistência Técnica da Abaxis.

Sensibilidade

O limite inferior de detecção do intervalo reportável (dinâmico) para cada analito é de: colesterol 20 mg/dL (0,52 mmol/L); HDL 15 mg/dL (0,39 mmol/L) e triglicéridos 20 mg/dL (0,23 mmol/L).

Precisão

Foram realizados estudos de precisão utilizando as directrizes NCCLS EP5-A¹⁹ com modificações com base na NCCLS EP18-P²⁰ para dispositivos de utilização unitária. Os resultados de precisão intra-ensaio e total foram determinados utilizando duas amostras de soro. Os estudos utilizaram os dados de quatro analisadores, dois lotes de discos e dois locais diferentes ao longo de 10 dias para ambas as amostras. Os resultados estão resumidos abaixo.

Tabela 6: Precisão

| Analito | Tamanho da amostra | Intra-ensaio | Total |
|--------------------------------|--------------------|--------------|-------|
| Colesterol total (CHOL) | | | |
| <u>Soro 1</u> | N = 160 | | |
| Média (mg/dL) | | 223,7 | 223,7 |
| DP | | 3,0 | 5,7 |
| %CV | | 1,3 | 2,6 |
| <u>Soro 2</u> | N = 160 | | |
| Média (mg/dL) | | 202,2 | 202,2 |
| DP | | 3,1 | 4,4 |
| %CV | | 1,5 | 2,2 |
| HDL | | | |
| <u>Soro 1</u> | N = 160 | | |
| Média (mg/dL) | | 55,3 | 55,3 |
| DP | | 1,4 | 1,9 |
| %CV | | 2,6 | 3,5 |
| <u>Soro 2</u> | N = 160 | | |
| Média (mg/dL) | | 38,0 | 38,0 |
| DP | | 1,3 | 1,6 |
| %CV | | 3,5 | 4,3 |
| Triglicéridos (TRIG) | | | |
| <u>Soro 1</u> | N = 160 | | |
| Média (mg/dL) | | 206,8 | 206,8 |
| DP | | 4,7 | 5,5 |
| %CV | | 2,3 | 2,6 |
| <u>Soro 2</u> | N = 160 | | |
| Média (mg/dL) | | 163,7 | 163,7 |
| DP | | 1,8 | 2,4 |
| %CV | | 1,1 | 1,5 |

Estes dados indicam que os três ensaios cumprem os critérios de precisão do NCEP.^{2,3,4}

Correlaç – Colheita de amostras venosas ão

As amostras de soro foram colhidas e processadas no Analisador Químico de Sangue Piccolo e por métodos comparativos. Todos os resultados dos testes foram gerados no local de colheita. As amostras foram seleccionadas de forma a indicar uma distribuição de valores utilizando a directriz NCCLS EP9-A2 como alvo para cada analito.²¹ A Tabela 8 apresenta estatísticas de correlação representativas.

Tabela 7: Correlação do Analisador Químico de Sangue Piccolo com métodos comparativos

| Ensaio | Coefficiente de correlação (r) | Declive | Inter-cepção | EPE | N | Intervalo da amostra (mg/dL) | Método comparativo |
|-----------------------------|--------------------------------|---------|--------------|-----|-----|------------------------------|--|
| Colesterol (CHOL) | 0,997 | 1,079 | -17,1 | 4,5 | 174 | 115–342 | Ensaio de colesterol Bayer num instrumento Hitachi 917 Roche |
| HDL | 0,965 | 0,851 | 8,3 | 3,9 | 166 | 23–97 | HDL-C plus num instrumento Hitachi 917 |
| Triglicéridos (TRIG) | 0,999 | 0,983 | 8,2 | 4,4 | 172 | 38–487 | Ensaio de triglicéridos Bayer num instrumento Hitachi 917 |

Tabela 8: Recuperação calculada dos ensaios do Painel Lipídico da Abaxis – Colheita de amostras venosas

| Ensaio | Concentração prevista do dispositivo mg/dL | Recuperação calculada do Analisador Piccolo a partir dos dados de regressão linear acima mg/dL | Desvio mg/dL | % de desvio |
|----------------------|--|--|--------------|-------------|
| Colesterol (CHOL) | 200 | 199 | -1 | -0,5 |
| | 240 | 242 | 2 | 0,8 |
| HDL | 40 | 42 | 2 | 5,0 |
| | 60 | 59 | -1 | -1,7 |
| Triglicéridos (TRIG) | 150 | 156 | 6 | 4,0 |
| | 200 | 205 | 5 | 2,5 |

Correlação – Colheita de amostras capilares

As amostras de sangue total capilar heparinizado foram colhidas e testadas uma vez no Analisador Químico Piccolo Xpress. As amostras de plasma venoso correspondentes dos mesmos sujeitos foram testadas em duplicado pelos métodos de teste da Roche. As amostras capilares foram testadas em três contextos não laboratoriais e os dados combinados. As amostras foram seleccionadas de forma a indicar uma distribuição de valores utilizando a directriz CLSI EP9-A2 como alvo para cada analito.²¹

A Tabela 9 apresenta estatísticas de correlação representativas.

Tabela 9: Correlação do Analisador Químico Piccolo Xpress com métodos comparativos – Colheita de amostras capilares

| Ensaio | Coefficiente de correlação (r) | Declive | Intercepção | EP | N | Intervalo de amostra (mg/dL) | Método comparativo |
|-------------------------|--------------------------------|---------|-------------|-----|-----|------------------------------|---|
| Colesterol total (CHOL) | 0,995 | 0,97 | 1,2 | 5,6 | 639 | 21-412 | Roche Total Cholesterol num sistema |
| | | | | | | | Cobas 6000 |
| HDL | 0,981 | 0,99 | -1,6 | 2,7 | 559 | 21-93 | Roche HDL-Cholesterol Plus 3rd Generation num sistema |
| | | | | | | | Cobas 6000 |
| Triglicéridos (TRIG) | 0,996 | 0,96 | 4,1 | 7,9 | 588 | 36-496 | Roche Triglycerides num sistema |
| | | | | | | | Cobas 6000 |

Tabela 10: Recuperação calculada dos ensaios do Painel Lipídico da Abaxis – Colheita de amostras capilares

| Ensaio | Concentração do teste Roche mg/dL | Recuperação calculada do Analisador Piccolo a partir dos dados de regressão linear acima mg/dL | Desvio mg/dL | % de desvio |
|-------------------------|-----------------------------------|--|--------------|-------------|
| Colesterol total (CHOL) | 200 | 194 | -6 | -3,0 |
| | 240 | 233 | -7 | -3,3 |
| HDL | 40 | 38 | -2 | -5,0 |
| | 60 | 58 | -2 | -3,3 |
| Triglicéridos (TRIG) | 150 | 148 | -2 | -1,3 |
| | 200 | 196 | -4 | -2,0 |

Exactidão – Certificação da Rede de Laboratórios de Método de Referência para o Colesterol (Cholesterol Reference Method Laboratory Network, CRMLN)

A exactidão dos ensaios Piccolo para colesterol total e colesterol HDL foi estabelecida completando o processo de certificação da CRMLN para estes analitos no soro. Uma parte fundamental da certificação da CRMLN consiste na análise de regressão linear dos ensaios Piccolo em comparação com os métodos de referência. A exactidão do Ensaio de Colesterol Total em comparação com o método de referência de Abell-Kendall é indicada pelo coeficiente de correlação (R^2) de 0,996, o declive de 0,972 e a intercepção de 7,2 mg/dL. Determinou-se um CV inter-ensaio (n=10) para o Ensaio de Colesterol Total Piccolo de 0,8%.

Para o Ensaio de HDL Piccolo em comparação com o método de referência de HDL, precipitação seguida pelo ensaio de colesterol de Abell-Kendall, o coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,986, o declive de 0,968 e a intercepção de 2,1 mg/dL. Determinou-se um CV inter-ensaio (n=20) para o Ensaio de HDL Piccolo de 1,9%.

O desempenho analítico observado cumpriu os requisitos da certificação da CRMLN para colesterol total e HDL para soro. A certificação da CRMLN para ensaios de triglicéridos ainda não está disponível nos Estados Unidos. No entanto, o estudo de correlação para triglicéridos descrito acima foi realizado num laboratório padronizado para triglicéridos através do Programa de Padronização de Lípidos CDC-NHLBI.

Resultados do estudo com utilizadores sem formação

Foi realizado um estudo com “utilizadores sem formação”, no qual os participantes receberam apenas as instruções do teste e lhes foi solicitado que realizassem testes em 3 painéis lipídicos com amostras aleatorizadas e com ocultação. As amostras consistiam em pools de soro preparados a três níveis para cada um dos três analitos: colesterol total, HDL, colesterol e triglicéridos. Os participantes não receberam qualquer formação sobre a utilização do teste. No total, foram inscritos 63 participantes de 3 locais, representando uma população demográfica (educação, idade, sexo, etc.) variada.

As tabelas abaixo apresentam o resumo do desempenho para cada analito.

Colesterol total

| | Nível 1 | Nível 2 | Nível 3 |
|--|---|--|--|
| N | 63 | 63 | 63 |
| Média | 144,2 mg/dL | 198,4 mg/dL | 245,1 mg/dL |
| %CV | 2,9% | 2,3% | 1,3% |
| Intervalo observado | 122–154 | 186–222 | 237–255 |
| Percentagem de resultados dentro do intervalo $\pm 11,1\%$ * | 98,4% (62/63) IC de 95%: 91,5% a 100% | 100% (63/63) IC de 95%: 94,3% a 100% | 100% (63/63) IC de 95%: 94,3% a 100% |

* Esta percentagem baseia-se no pressuposto de que não se consegue distinguir devidamente entre valores normais e anormais quando os erros são superiores a um quarto do intervalo normal. Foi considerado o intervalo de 140 mg/dL – 220 mg/dL.

Colesterol HDL

| | Nível 1 | Nível 2 | Nível 3 |
|--|--|--|--|
| N | 63 | 63 | 63 |
| Média | 29,4 mg/dL | 44,4 mg/dL | 58,9 mg/dL |
| %CV | 3,3% | 3,2% | 2,0% |
| Intervalo observado | 28–32 | 42–48 | 57–62 |
| Percentagem de resultados dentro do intervalo $\pm 15,0\%$ | 100% (63/63) IC de 95%: 94,3% a 100% | 100% (63/63) IC de 95%: 94,3% a 100% | 100% (63/63) IC de 95%: 94,3% a 100% |

Triglicéridos

| | Nível 1 | Nível 2 | Nível 3 |
|--|--|--|--|
| N | 63 | 63 | 63 |
| Média | 83,4 mg/dL | 152,7 mg/dL | 205,6 mg/dL |
| %CV | 3,0% | 1,5% | 0,9% |
| Intervalo observado | 77–96 | 148–164 | 201–210 |
| Percentagem de resultados dentro do intervalo $\pm 15,0\%$ | 100% (63/63) IC de 95%: 94,3% a 100% | 100% (63/63) IC de 95%: 94,3% a 100% | 100% (63/63) IC de 95%: 94,3% a 100% |

13. Símbolos



Data de validade

REF

Número de catálogo

LOT

Código do lote

IVD

Dispositivo diagnóstico in vitro



Consultar instruções de uso



Fabricante



Não reutilizar



Número X dos dispositivos de teste do kit

BOX

Sequência de Fabricação

SN

Número de série

EC REP

Representante autorizado na Comunidade Europeia



Limite de temperatura



PN:

Número da peça

Cuidado



denota conformidade com directivas europeias especificadas

14. Bibliografia

1. Castelli, WP, et al. Lipids and risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Epidemiol* 1992; 2:23-28.
2. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute, 2002.
3. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285:2486-97.
4. Warnick, GR, et al. Impact of the third cholesterol report from the Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Education Program on the Clinical Laboratory. *Clin Chem* 2002; 48:11-17.
5. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. *Clin Chem* 1999; 45:2158-2163.
6. Warnick G, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clin Chem* 2001; 47:1579-96.
7. Klotzsch SG, McNamara JR. Triglyceride measurements: a review of methods and interferences. *Clin Chem* 1990; 36:1605-1613.
8. Cole TG, Klotzsch SG, McNamara JR. Measurement of Triglyceride Concentration. In *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed, Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Washington, DC: AACC Press. 2000: 207-219.
9. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.
10. Bachorik PS. Measurement of low-density-lipoprotein cholesterol. In *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed, Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Washington, DC: AACC Press. 2000: 245-263.
11. 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*)
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). *Clinical laboratory waste management; approved guideline – second edition*. NCCLS Document GP5-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). *Procedure for the collection of diagnostic specimens by venipuncture; approved guideline – fourth edition*. NCCLS Document H3-A4. Wayne, PA: NCCLS, 1998.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). *Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline – second edition*. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
15. 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, 2002.
16. Young, DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press. 1990 and 1991 Supplement.
17. Kroll MH, et al. Standardization of Lipoprotein Reporting. *Am J Clin Pathol* 2000; 114:696-702.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). *Evaluation of Linearity of Quantitative Analytical methods; proposed guideline – second edition*. NCCLS Document EP6-P2. Wayne, PA: NCCLS, 2001.
19. 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-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). *Quality management for unit-use testing; proposed guideline*. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). *Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline – second edition*. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.