

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 Piccolo Comprehensive Metabolic 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 alanina aminotransferase (ALT), albumina, fosfatase alcalina (ALP), aspartato aminotransferase (AST), cálcio, cloreto, creatinina, glicose, potássio, sódio, bilirrubina total, dióxido de carbono total, proteína total e azoto ureico no sangue (BUN) em sangue total heparinizado, plasma heparinizado ou soro em laboratórios clínicos ou locais de prestação de cuidados.

Apenas para clientes nos EUA

Os testes contidos neste painel estão dispensados ao abrigo dos regulamentos CLIA de 1988. Se um laboratório modificar as instruções do sistema de testes, estes serão considerados de elevada complexidade e sujeitos a todos os requisitos CLIA. Nos laboratórios com dispensa dos critérios CLIA, apenas pode ser testado sangue total com heparina de lítio. 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 a Comissão para Acreditação de Laboratórios (Commission on Laboratory Accreditation, COLA) através do número 1-800-981-9883 para saber como obter um Certificado.

2. Resumo e explicação dos testes

O Disco de Reagente Piccolo Comprehensive Metabolic Panel e o Analisador Químico de Sangue Piccolo contêm um sistema de diagnóstico *in vitro* que ajuda o médico no diagnóstico das seguintes patologias:

Alanina aminotransferase (ALT):	Doenças hepáticas; incluindo hepatite viral e cirrose.
Albumina:	Doença hepática e renal.
Fosfatase alcalina (ALP):	Doenças hepáticas, ósseas, da paratiróide e intestinais.
Aspartato aminotransferase (AST):	Doenças hepáticas, incluindo hepatite e icterícia viral, choque.
Cálcio:	Doenças da paratiróide, doenças ósseas e doenças renais crónicas; tetania.
Cloreto:	Desidratação, diarreia prolongada e vômitos, doença tubular renal, hiperparatiroidismo, 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.
Potássio:	Doença renal glomerular ou tubular, insuficiência adrenocortical, cetoacidose diabética, terapêutica com potássio administrado por via intravenosa em excesso, sépsis, panhipopituitarismo, hemólise <i>in vitro</i> , hiperaldosteronismo, desnutrição, hiperinsulinismo, alcalose metabólica e perda gastrointestinal.
Sódio:	Desidratação, diabetes insipidus, perda de fluidos gastrointestinais hipotónicos, intoxicação por sal, diminuição seletiva da sensação de sede, perdas cutâneas, queimaduras, sudação, hiperaldosteronismo, distúrbios do SNC, hiponatremia de diluição, depleção e delírio e síndrome de secreção inadequada de ADH.
Bilirrubina total:	Distúrbios hepáticos, incluindo hepatite e obstrução da vesícula biliar; icterícia.

Dióxido de carbono total:	Alcalose e acidose metabólicas primárias e alcalose e acidose respiratórias primárias.
Proteína total:	Doenças hepáticas, renais, da medula óssea; distúrbios metabólicos e nutricionais.
Azoto ureico no sangue (BUN):	Doenças renais e metabólicas.

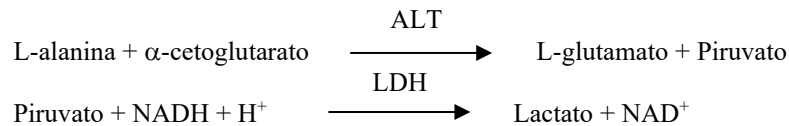
Tal como acontece com qualquer procedimento de teste de diagnóstico, todos os outros procedimentos de teste, incluindo o estado clínico do doente, devem ser considerados antes do diagnóstico final.

3. Princípio do procedimento

Alanina aminotransferase (ALT)

A alanina aminotransferase (ALT) tem sido medida segundo três métodos. Dois destes métodos – a técnica colorimétrica de acoplamento de dinitrofenilhidrazina^{1,2} e o ensaio enzimático fluorescente – raramente são utilizados.³ A técnica mais comum para determinar as concentrações de ALT no soro consiste no método enzimático baseado na obra de Wróblewski e LaDue.⁴ Foi proposto um procedimento de Wróblewski e LaDue modificado como o procedimento recomendado pela Federação Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC).⁵

O método desenvolvido para utilização nos Analisadores Piccolo é uma modificação do procedimento recomendado pela IFCC. Nesta reação, a ALT catalisa a transferência de um grupo amino de L-alanina para α -cetoglutarato para formar L-glutamato e piruvato. A lactato desidrogenase catalisa a conversão de piruvato em lactato. Concomitantemente, o NADH é oxidado em NAD⁺, conforme ilustrado no seguinte esquema de reação.

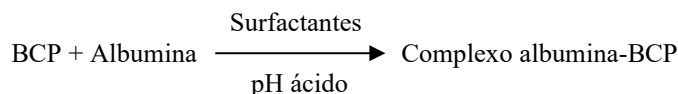


A taxa de variação da diferença de absorvância entre 340 nm e 405 nm deve-se à conversão de NADH em NAD⁺ e é diretamente proporcional à quantidade de ALT presente na amostra.

Albumina (ALB)

Os métodos iniciais utilizados para medir a albumina incluíam técnicas de fracionamento^{6,7,8} e o teor de triptofano das globulinas.^{9,10} Estes métodos são de realização insustentável e não possuem uma especificidade elevada. Duas técnicas imunoquímicas são consideradas como métodos de referência, mas são dispendiosas e morosas.¹¹ As técnicas de ligação por corante são os métodos mais frequentemente utilizados para medir a albumina. O verde de bromocresol (BCG) é o método de ligação por corante mais frequentemente utilizado, mas pode sobrestimar a concentração de albumina, especialmente no limite inferior do intervalo normal.¹² O púrpura de bromocresol (BCP) é o corante mais específico utilizado.^{13,14}

Quando ligado à albumina, o púrpura de bromocresol (BCP) muda de cor de amarelo para azul. A absorvância máxima varia com a mudança de cor.



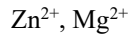
A albumina ligada é proporcional à concentração de albumina na amostra. Trata-se de uma reação de ponto final que é medida como a diferença de absorvância entre 600 nm e 550 nm.

Fosfatase alcalina (ALP)

As técnicas de medição da fosfatase alcalina foram inicialmente desenvolvidas há mais de 60 anos. Vários destes métodos espectrofotométricos de ponto final ou de dois pontos^{15,16} são atualmente considerados obsoletos ou pouco práticos. A utilização de fosfato *p*-nitrofenil (*p*-NPP) aumentou a velocidade da reação.^{17,18} A fiabilidade desta técnica foi significativamente melhorada com a utilização de um tampão de íões metálicos para manter a concentração de íões de magnésio e zinco na reação.¹⁹ O método de referência da Associação Americana de Química Clínica (American Association for Clinical Chemistry, AACC)²⁰ utiliza o *p*-NPP como substrato e um tampão de íões metálicos.

O procedimento Piccolo consiste numa modificação dos métodos da AACC e da IFCC.²¹ A fosfatase alcalina hidrolisa o *p*-NPP num tampão de íões metálicos e forma *p*-nitrofenol e fosfato.



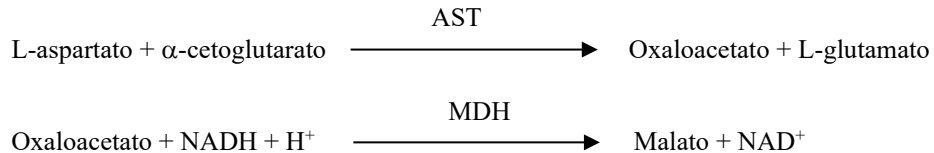


A quantidade de ALP na amostra é proporcional à taxa de aumento da diferença de absorvância entre 405 nm e 500 nm.

Aspartato aminotransferase (AST)

O teste de aspartato aminotransferase (AST) baseia-se no método da taxa de Karmen²² conforme modificado por Bergmeyer.²³ O atual método de referência da Federação Internacional de Química Clínica (IFCC) utiliza a técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplamento da malato desidrogenase (MDH) e dinucleótido de nicotinamida (NADH) reduzido na detecção de AST no soro.^{23,24} A lactato desidrogenase (LDH) é adicionada à reação para reduzir a interferência provocada pelo piruvato endógeno.

A AST catalisa a reação do L-aspartato e do α -cetogluturato em oxaloacetato e L-glutamato. O oxaloacetato é convertido em malato e o NADH é oxidado em NAD^+ pelo catalisador MDH.

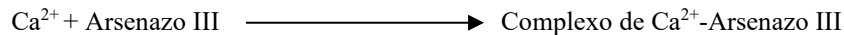


A taxa de variação da absorvância a 340 nm/405 nm provocada pela conversão de NADH em NAD^+ é diretamente proporcional à quantidade de AST presente na amostra.

Cálcio (CA)

Os primeiros métodos utilizados para analisar o cálcio envolveram a precipitação do cálcio com um excesso de aniões.^{25,26,27} 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.²⁸ Os métodos espectrofotométricos que utilizam complexona de *o*-cresolftaleína ou arsenazo III como indicadores metalocrômicos são utilizados com maior frequência.^{29,30,31} O arsenazo III tem uma grande afinidade relativamente ao cálcio e não depende da temperatura como a CPC.

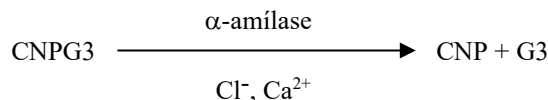
O cálcio na amostra do doente liga-se ao arsenazo III para formar um complexo de cálcio-corante.



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

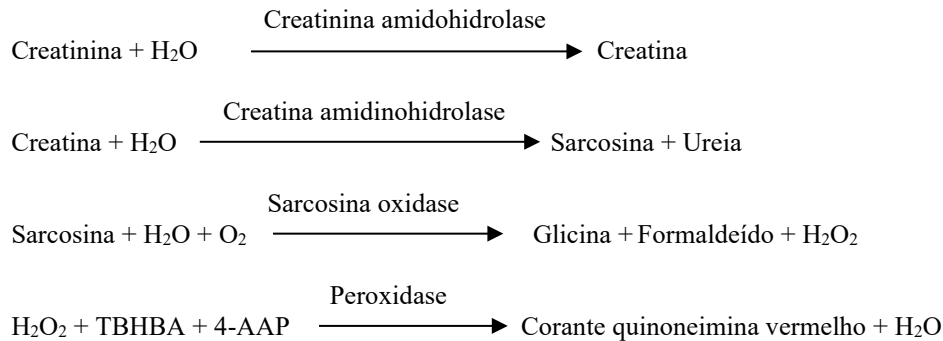
Cloreto (CL⁻)

Este método baseia-se na determinação da ativação dependente de cloreto da atividade de α -amilase. A α -amilase desativada é reativada pela adição do ião de cloreto, permitindo ao cálcio reassociar-se à enzima. A reativação da atividade da α -amilase é proporcional à concentração de iões de cloreto na amostra. A α -amilase reativada converte o substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNP3), em 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP), produzindo cor e α -maltotriose (G3). A reação é medida bicromaticamente e o aumento em termos de absorvância é diretamente proporcional à atividade de α -amilase reativada e à concentração de iões de cloreto na amostra.³²



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 atual combina a utilização de terra de Fuller (floridina) com a técnica de Jaffe para aumentar a especificidade da reação.^{33,34} Foram desenvolvidos métodos enzimáticos mais específicos para creatinina do que as várias modificações da técnica de Jaffe.^{35,36,37} Os métodos que utilizam a enzima creatinina amidohidrolase eliminam o problema da interferência de iões de amónio detetada nas técnicas que utilizam a creatinina iminohidrolase.³⁸



São utilizadas duas cuvetes 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 reações 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 reação de ponto final é medida como a diferença de absorvância entre 550 nm e 600 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 crônica (DRC) pode não ser detetada 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.

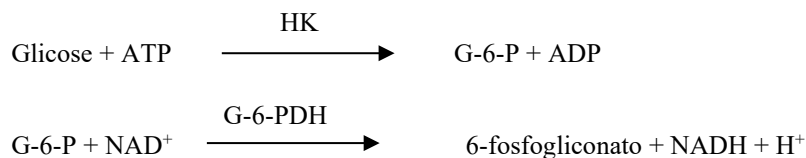
O cálculo da TFGe é realizado pelo Piccolo utilizando a idade, o sexo e a raça do doente. O método Piccolo para a creatinina é rastreável ao método de referência de IDMS para creatinina, pelo que é possível utilizar a seguinte forma da equação MDRD para calcular a TFGe.

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

Glicose (GLU)

As primeiras medições da concentração de glicose foram realizadas utilizando métodos de redução de cobre (como o de Folin-Wu³⁹ e Somogyi-Nelson^{40,41}). 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 Metabólico Completo consiste numa versão modificada do método de hexoquinase, que foi proposto como a base para o método de referência de glicose.⁴²

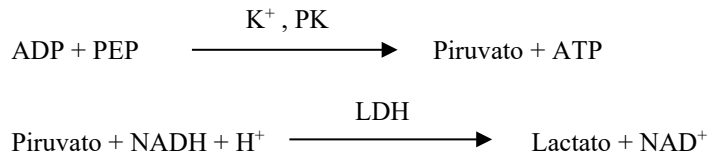
A reação da glicose com trifosfato de adenosina (ATP), catalisada por hexoquinase (HK), produz glicose-6-fosfato (G-6-P) e difosfato de adenosina (ADP). A glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH) catalisa a reação de G-6-P em 6-fosfogliconato e a redução de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) em NADH.



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 ativação de piruvato quinase com potássio e apresenta uma excelente linearidade e suscetibilidade insignificante a substâncias endógenas.^{43,44,45} A interferência de iões de sódio e amónio é minimizada com a adição de Kryptofix e de glutamina sintetase, respectivamente.⁴³

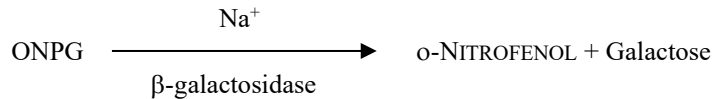
Na reação enzimática acoplada, a piruvato quinase (PK) desfosforila o fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. A lactato desidrogenase (LDH) catalisa a conversão de piruvato em lactato. Concomitantemente, o NADH é oxidado em NAD⁺.



A taxa de variação da diferença de absorvância entre 340 nm e 405 nm deve-se à conversão de NADH em NAD⁺ e é diretamente proporcional à quantidade de potássio presente na amostra.

Sódio (Na⁺)

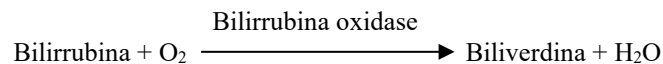
Foram desenvolvidos métodos colorimétricos e enzimáticos que permitem medir a concentração de sódio na instrumentação de química clínica padrão.^{46,47,48} Na reação enzimática da Abaxis, a β-galactosidase é ativada pelo sódio na amostra. A enzima ativada catalisa a reação de o-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo (ONPG) em o-nitrofenol e galactose.



Bilirrubina total (TBIL)

Os níveis de bilirrubina total têm sido normalmente medidos por testes que utilizam ácido sulfanílico diazotado.^{49,50} Foi desenvolvido um método mais recente e mais específico utilizando a enzima bilirrubina oxidase.^{51,52,53} Além de utilizar o método de teste de bilirrubina total mais específico, a fotodegradação do analito é minimizada nos analisadores Piccolo, uma vez que a amostra pode ser testada imediatamente após a colheita.

No procedimento enzimático, a bilirrubina é oxidada pela bilirrubina oxidase em biliverdina.



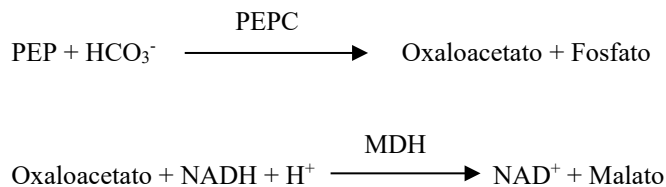
A bilirrubina é quantificada como a diferença de absorvância entre 467 nm e 550 nm. A absorvância inicial desta reação de ponto final é determinada pela cuvete de bilirrubina de branco e a absorvância final é obtida a partir da cuvete de teste de bilirrubina.

A quantidade de bilirrubina na amostra é proporcional à diferença entre as medições de absorvância inicial e final.

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, íons de bicarbonato e carbonato e ácido carbônico. O dióxido de carbono total pode ser medido através do indicador de pH, do eletrodo de CO₂ e métodos enzimáticos espectrofotométricos, os quais produzem todos resultados exatos e precisos.^{54,55} O método enzimático é bastante adequado para utilização num analisador químico de sangue de rotina sem adicionar complexidade.

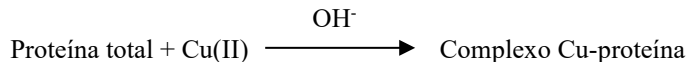
No método enzimático, a amostra é primeiramente alcalinizada para converter todas as formas de dióxido de carbono (CO₂) em bicarbonato (HCO₃⁻). Em seguida, o fosfoenolpiruvato (PEP) e HCO₃⁻ reagem para formar oxaloacetato e fosfato na presença de fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC). A malato desidrogenase (MDH) catalisa a reação 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 diretamente proporcional à quantidade de tCO₂ na amostra.



Proteína total (TP)

O método de proteína total é uma modificação da reação do biureto, conhecida pela sua precisão, exatidão e especificidade.⁵⁶ Foi originalmente desenvolvido por Riegler e modificado por Weichselbaum, Doumas et al. A reação do biureto é candidata ao método de referência para a proteína total.^{57,58,59}

Na reação do biureto, a solução proteica é tratada com íons cúpricos [Cu(II)] num meio alcalino forte. São adicionados tartarato de potássio e sódio e iodeto de potássio para evitar a precipitação de hidróxido de cobre e a auto-redução de cobre, respectivamente.⁵⁸ Os íons Cu(II) reagem com as ligações peptídicas entre os átomos de oxigénio no carbonilo e de nitrogénio no amido para formar um complexo Cu-proteína colorido.

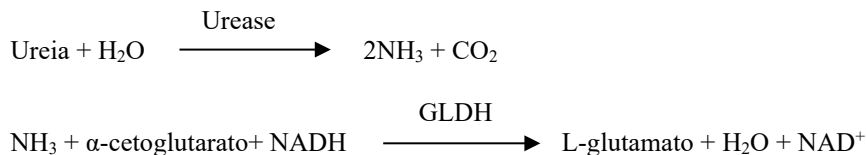


A quantidade de proteína total presente na amostra é diretamente proporcional à absorvância do complexo Cu-proteína. O teste de proteína total é uma reação de ponto final e a absorvância é medida como a diferença de absorvância entre 550 nm e 850 nm.

Azoto ureico no sangue (BUN)

A ureia pode ser medida direta e indiretamente. A reação da diacetilmonoxima, o único método direto para medir a ureia, é frequentemente utilizada, embora empregue reagentes perigosos.⁶⁰ Os métodos indiretos medem a amónia criada a partir da ureia; a utilização da enzima urease aumentou a especificidade destes testes.⁶¹ A amónia é quantificada por uma variedade de métodos, incluindo a nesslerização (titulação de ácido), a técnica de Berthelot^{62,63} e reações enzimáticas acopladas.^{64,65} No entanto, os procedimentos de Berthelot catalisados são inconstantes para a medição de amónia.⁶⁶ As reações enzimáticas acopladas são rápidas, apresentam uma elevada especificidade para a amónia e são frequentemente utilizadas. Uma destas reações foi proposta como candidato a método de referência.⁶⁷

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



A taxa de variação da diferença de absorvância entre 340 nm e 405 nm deve-se à conversão de NADH em NAD⁺ e é diretamente proporcional à quantidade de ureia presente na amostra.

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.

5. Descrição dos reagentes

Reagentes

Cada Disco de Reagente Piccolo Comprehensive Metabolic Panel 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 alanina aminotransferase (ALT), albumina (ALB), fosfatase alcalina (ALP), aspartato aminotransferase (AST), cálcio (CA), cloreto (CL-), glicose (GLU), potássio (K+), sódio (NA+), dióxido de carbono total (tCO₂), proteína total (TP) e azoto ureico no sangue (BUN). São incluídos no disco para creatinina (CRE) e bilirrubina total (TBIL) brancos de amostra dedicados. Cada disco contém ainda um diluente composto por surfactantes e conservantes.

Tabela 1: Reagentes

Componente	Quantidade/Disco
2,4,6-tribromo-3-ácido hidroxibenzoico (TBHBA)	188 µg
2-cloro-4-nitrofenil- α -maltotriósido (CNPG3)	53 µg
Cloridrato de 2-metil-4-isotizolina-3-ona (MIT)	4,2 µg
4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5]tricosano (Kryptofix 221)	86 µg
Cloridrato de 4-aminoantipirina	13 µg
Adenosina 5'-difosfato	36 µg
Adenosina 5'-trifosfato	22 µg
Ácido α -cetoglutárico	101 µg
Amilase	0,036 U
Arsenazo III, sal sódico	1,7 µg
Ascorbato oxidase (<i>Cucurbita spp.</i>)	0,3 U
Bilirrubina oxidase	0,1 U
Púrpura de bromocresol	2,2 µg
Acetato de cálcio	25 µg
Ácido cítrico, sal trissódico	567 µg
Creatina amidinohidrolase (<i>Actinobacillus spp.</i>)	3 U
Creatinina amidohidrolase (<i>Pseudomonas spp.</i>)	1 U
Sulfato cúprico	134 µg
Ácido etilenoglicol-bis(β -aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetracético (EGTA)	4 µg
Ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA)	178 µg
Ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA), sal dissódico	15 µg
β -galactosidase	0,005 U
Glicose-6-fosfato desidrogenase (leveduras)	0,05 U
Glutamato desidrogenase (fígado bovino)	0,01 U
Glutamina sintetase	0,17 U
Hexoquinase (leveduras)	0,1 U
Imidazol	29 µg
Lactato desidrogenase	0,27 U
L-alanina	874 µg
Ácido L-aspártico	426 µg
Ácido L-glutâmico	9,2 µg
Cloreto de magnésio	3 µg
Sulfato de magnésio	33 µg
Malato desidrogenase (coração de porco)	0,1 U
Cloreto de manganês	10 µg
N-acetilcisteína	60 µg
β -nicotinamida adenina dinucleótido (NAD)	40 µg
β -nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) reduzido	48 µg
o-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG)	22 µg
Peroxidase (rábano silvestre)	1 U
Fosfoenol-piruvato	57 µg
Fosfoenol-piruvato carboxilase	0,001 U
p-NPP	56 µg
Ferricianeto de potássio	0,4 µg
Iodeto de potássio	28 µg
Piruvato quinase	0,01 U
Sarcosina oxidase (microrganismo)	1 U
Tartarato de potássio e sódio	343 µg
Urease (ervilha-sabre)	0,05 U
Sulfato de zinco	3 µg
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.⁶⁸ 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 diretamente 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 respetivas bolsas seladas a 2–8 °C (36–46 °F). Não exponha os discos, abertos ou fechados, a luz solar direta 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 afetar 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 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 obtidas por punção venosa devem apresentar-se homogéneas antes de serem transferidas 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.
- A hemólise pode provocar resultados incorretamente elevados em ensaios de potássio. Este problema pode não ser detetado ao analisar sangue total (basta uma libertação de potássio tão baixa como 0,5% dos eritrócitos para poder aumentar o nível sérico de potássio em 0,5 mmol/L). Adicionalmente, mesmo amostras não hemolisadas que não sejam imediatamente processadas podem ter aumentado os níveis de potássio devido a fuga de potássio intracelular.⁶⁹
- As amostras de sangue total por punção venosa devem ser processadas no prazo de 60 minutos após a colheita.⁷⁰ As concentrações de **glicose** são afetadas pelo tempo decorrido desde a última refeição do doente e pelo tipo de amostra colhida. Para determinar os resultados de glicose com precisão, as amostras devem ser colhidas de um doente que tenha

estado em jejum durante pelo menos 12 horas. A concentração de glicose diminui aproximadamente 5–12 mg/dL no espaço de 1 hora em amostras não centrifugadas armazenadas à temperatura ambiente.⁷¹

- A refrigeração de amostras de sangue total pode provocar alterações significativas nas concentrações de **aspartato aminotransferase, creatinina e glicose**.⁷² 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.
- Os resultados de **bilirrubina total** podem ser adversamente afetados pela fotodegradação.⁷³ As amostras de sangue total que não sejam processadas imediatamente não devem ser armazenadas no escuro durante um período superior a 60 minutos. Se não for possível analisar a amostra dentro desse período, deverá ser separada em plasma ou soro e armazenada num tubo de amostra com tampa no escuro a baixas temperaturas.⁷⁴
- Para as amostras de sangue total ou 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 exatidão 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.⁷⁵

8. Procedimento

Materiais fornecidos

- Um Disco de Reagente Metabólico Completo, PN: 400-1028 (uma caixa de discos, PN: 400-0028)

Materiais necessários mas não fornecidos

- Analisador Químico de Sangue Piccolo ou Analisador Químico Piccolo Xpress.
- As pipetas 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 a 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 Piccolo Comprehensive Metabolic Panel é inferior a 14 minutos. Os analisadores mantêm 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

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 diretrizes federais, estatais e locais.

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 reação 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 discutidas no Manual do Operador do Analisador Químico de Sangue Piccolo ou do Analisador Químico Piccolo Xpress.

- O único anticoagulante **recomendado para utilização** com o Sistema 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 íons de amónio interferem com pelo menos um dos químicos contidos no Disco de Reagente Piccolo Comprehensive Metabolic Panel. Não utilize heparina de sódio.
- As amostras com hematócritos com um excesso de volume de concentrado de eritrócitos de 62–65% (uma fração de volume de 0,62–0,65) podem apresentar resultados inexatos. 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 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 diretriz NCCLS EP7-P.⁷⁶

Efeitos de substâncias endógenas

- As substâncias interferentes fisiológicas (hemólise, icterícia e lipemia) 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 afetados por >10% de interferência resultante de hemólise, lipemia ou icterícia. A indicação “HEM”, “LIP” ou “ICT”, respetivamente, é impressa no cartão de resultado em vez do resultado.

- Níveis de amilase extremamente elevados (>9.000 U/L) terão um efeito significativo, aumento >10%, nos resultados de cloreto. O sistema Piccolo não avalia a concentração de amilase para cada amostra.
- O ensaio de potássio no sistema Piccolo é um ensaio acoplado de piruvato quinase (PK) / lactato desidrogenase (LDH). Assim, em casos de traumatismo muscular extremo ou de níveis altamente elevados de creatina quinase (CK), o Piccolo pode recuperar um valor de potássio (K⁺) falsamente elevado. Nesses casos, é necessário a confirmação de recuperações de níveis elevados de potássio inesperadas utilizando uma metodologia diferente.
- Para obter mais informações sobre os níveis máximos de substâncias endógenas, contacte a Assistência Técnica da Abaxis.

Efeitos de substâncias exógenas e terapêuticas

- Foram selecionadas trinta e cinco substâncias exógenas e terapêuticas como potencialmente interferentes para os métodos de teste da Abaxis com base nas recomendações de Young.⁷⁷ A interferência significativa define-se como um desvio no resultado superior a $\pm 10\%$ para uma amostra de intervalo normal. Os pools de soro humano foram suplementados com concentrações conhecidas dos fármacos ou químicos e posteriormente analisados. Consulte a Tabela 2 para obter uma lista de substâncias exógenas e terapêuticas avaliadas. **Consulte a TABELA 3 para obter uma lista de analitos nos quais foi observada interferência.**

Tabela 2: Substâncias exógenas e terapêuticas avaliadas

Substância potencialmente interferente	Concentração mais elevada testada (mg/dL a menos que especificado de outro modo)
Acetaminofeno	100
Acetoacetato	102
Ácido acetilsalicílico	50
Ampicilina	30
Ácido ascórbico	20
Cafeína	10
Cloreto de cálcio	20
Cefalotina (Keflin)	400
Cloranfenicol	100
Cimetidina	16
Dopamina	19
Epinefrina	1
Eritromicina	10
Glutathione	30
Hidroclorotiazida	7,5
Ibuprofeno	50
Isoniazida	4
Ácido <i>alfa</i> -cetoglutárico	5
Cetoprofeno	50
L-dopa	5
Lidocaína	1
Lactato de lítio	84
Meticilina	100
Metotrexato	0,5
Metronidazol	5
Nafcilina	1
Nitrofurantoína	20
Oxacilina	1
Oxalacetato	132
Penicilina G	100
Fenitoína (5,5-difenilhidantoína)	3
Prolina	4
Rifampicina	0,5
Ácido salicílico	50
Sulfadiazina	150

Tabela 2: Substâncias exógenas e terapêuticas avaliadas (continuação)

Interferente potencial	Concentração mais elevada testada (mg/dL, salvo indicação em contrário)
Sulfanilamida	50
Teofilina	20

Consulte a Tabela 3 para obter uma lista de analitos nos quais foi observada interferência.

Tabela 3: As substâncias seguintes apresentaram uma variação superior a $\pm 10\%$ nos resultados para uma amostra de intervalo normal.

	Concentração que produz interferência >10%	% de interferência^A observada
Alanina aminotransferase		
Ácido ascórbico	20	aum. 11%
Oxalacetato	132	aum. 843%
Albumina		
Acetoacetato	102	dim. 18%
Ampicilina	30	dim. 12%
Cafeína	10	dim. 14%
Cloreto de cálcio	20	dim. 17%
Cefalotina (Keflin)	400	aum. 13%
Ibuprofeno	50	aum. 28%
α -cetogluturato	5	dim. 11%
Nitrofurantoína	20	dim. 13%
Prolina	4	aum. 12%
Sulfadiazina	10	dim. 14%
Sulfanilamida	50	dim. 12%
Teofilina	20	dim. 11%
Fosfatase alcalina		
Teofilina	20	dim. 42%
Creatinina		
Ácido ascórbico	20	dim. 11%
Dopamina	19	dim. 80%
L-dopa	5	dim. 71%
Epinefrina	1	dim. 45%
Glutaciona	30	dim. 13%
Glicose		
Oxalacetato	132	dim. 11%
Piruvato	44	dim. 13%
Potássio		
Penicilina G	100	aum. 17%
Sulfadiazina	150	dim. 12%
Sódio		
Cefalotina	400	aum. 12%
Metotrexato	0,5	aum. 11%
Penicilina G	100	aum. 10%
Bilirrubina total		
Dopamina	19	dim. 55%

L-dopa	5	dim. 17%
Dióxido de carbono total		
Acetaminofeno	100	aum. 11%
Ácido ascórbico	20	dim. 12%
Cefalotina	400	aum. 13%
Cimetidina	16	dim. 19%

Tabela 3: As substâncias seguintes apresentaram uma variação superior a $\pm 10\%$ nos resultados para uma amostra de intervalo normal. (continuação)

	Concentração que produz interferência >10%	% de interferência^A observada
Eritromicina	10	dim. 21%
Lidocaína	1	aum. 23%
Metotrexato	0,5	dim. 80%
Nitrofurantoína	20	aum. 13%
Ácido salicílico	50	dim. 17%
Sulfadiazina	150	dim. 25%

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

- 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 60–140 adultos do sexo masculino e feminino no Analisador Químico de Sangue Piccolo para determinar os intervalos de referência. Estes intervalos foram calculados com base no intervalo de referência de 95% estimado a partir de valores combinados (globais) obtidos dos indivíduos de referência.⁷⁸ Estes intervalos são fornecidos apenas como orientação. Os níveis de ALP em crianças em fase de crescimento são altamente variáveis.⁷⁹ Recomenda-se que o seu departamento ou a sua instituição estabeleçam os intervalos normais para a sua população de doentes específica.

Tabela 4: Intervalos de referência do Analisador Piccolo

Analito	Unidades comuns	Unidades SI
Alanina aminotransferase (ALT)	10–47 U/L	10–47 U/L
Albumina (ALB)	3,3–5,5 g/dL	33–55 g/L
Fosfatase alcalina (ALP), homem	53–128 U/L	53–128 U/L
Fosfatase alcalina (ALP), mulher	42–141 U/L	42–141 U/L
Aspartato aminotransferase (AST)	11–38 U/L	11–38 U/L
Cálcio (CA)	8,0–10,3 mg/dL	2,0–2,58 mmol/L
Cloreto (CL⁻)	98–108 mmol/L	98–108 mmol/L
Creatinina (CRE)	0,6–1,2 mg/dL	53–106 μ mol/L
Glicose (GLU)	73–118 mg/dL	4,05–6,55 mmol/L
Potássio (K⁺)	3,6–5,1 mmol/L	3,6–5,1 mmol/L
Sódio (NA⁺)	128–145 mmol/L	128–145 mmol/L
Bilirrubina total (TBIL)	0,2–1,6 mg/dL	3,4–27,4 μ mol/L
Dióxido de carbono total (tCO₂)	18–33 mmol/L	18–33 mmol/L
Proteína total (TP)	6,4–8,1 g/dL	64–81 g/L
Azoto ureico no sangue (BUN)	7–22 mg/dL	2,5–7,9 mmol/ureia/L

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 5: Intervalos dinâmicos do Analisador Piccolo

Analito	Unidades comuns	Unidades SI
Alanina aminotransferase (ALT)	5–2000 U/L	5–2000 U/L
Albumina (ALB)	1–6,5 g/dL	10–65 g/L
Fosfatase alcalina (ALP)	5–2400 U/L	5–2400 U/L
Aspartato aminotransferase (AST)	5–2000 U/L	5–2000 U/L
Cálcio (CA)	4,0–16,0 mg/dL	1,0–4,0 mmol/L
Cloreto (CL ⁻)	80–135 mmol/L	80–135 mmol/L
Creatinina (CRE)	0,2–20 mg/dL	18–1768 µmol/L
Glicose (GLU)	10–700 mg/dL	0,56–38,9 mmol/L
Potássio (K ⁺)	1,5–8,5 mmol/L	1,5–8,5 mmol/L
Sódio (NA ⁺)	110–170 mmol/L	110–170 mmol/L
Bilirrubina total (TBIL)	0,1–30 mg/dL	1,7–513 µmol/L
Dióxido de carbono total (tCO ₂)	5–40 mmol/L	5–40 mmol/L
Proteína total (TP)	2–14 g/dL	20–140 g/L
Azoto ureico no sangue (BUN)	2–180 mg/dL	0,7–64,3 mmol/ureia/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, ALT >2000* U/L. Se for inferior ao intervalo dinâmico, será impresso um “<” com um asterisco, por exemplo, ALT <5* U/L. 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 reprocessse o teste. Se os resultados da segunda amostra forem novamente suprimidos, contacte a Assistência Técnica da Abaxis.

Sensibilidade (limites de deteção)

O limite inferior de deteção do intervalo reportável (dinâmico) para cada analito é de: alanina aminotransferase 5 U/L; albumina 1 g/dL (10 g/L); fosfatase alcalina 5 U/L; aspartato aminotransferase 5 U/L; 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) potássio 1,5 mmol/L; sódio 110 mmol/L; bilirrubina total 0,1 mg/dL (1,7 µmol/L); dióxido de carbono total 5 mmol/L; proteína total 2 g/dL (20 g/L) e azoto ureico no sangue 2,0 mg/dL (0,7 mmol ureia/L).

Precisão

Foram realizados estudos de precisão utilizando as diretrizes NCCLS EP5-A⁸⁰ com modificações com base na NCCLS EP18-P⁸¹ 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 múltiplos instrumentos e dois lotes de discos de reagentes. Foram efetuados testes de cálcio, creatinina, glicose, sódio e azoto ureico num local; foram efetuados testes de potássio e dióxido de carbono total em dois locais durante 20 dias; foram efetuados testes de cloreto em dois locais durante um período de cinco dias.

Os resultados dos estudos de precisão são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Precisão

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Alanina aminotransferase (U/L)			
<u>Controlo 1</u>	N = 80		
Média		21	21
DP		2,76	2,79
CV		13,4	13,5
<u>Controlo 2</u>			
Média	52	52	
DP	2,7	3,25	
CV	5,2	6,2	

Tabela 6: Precisão (continuação)

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Albumina (g/dL)			
<u>Controlo 1</u>	N = 80		
Média		5,6	5,6
DP		0,09	0,11
CV		1,7	2,1
<u>Controlo 2</u>			
Média		3,7	3,7
DP		0,07	0,11
CV		2,0	2,9
Fosfatase alcalina (U/L)			
<u>Controlo 1</u>	N = 80		
Média		39	39
DP		1,81	2,29
CV		4,6	5,8
<u>Controlo 2</u>			
Média		281	281
DP		4,08	8,75
CV		1,5	3,1
Aspartato aminotransferase (U/L)			
<u>Controlo 1</u>	N = 80		
Média		49	49
DP		0,98	0,98
CV		2,07	2,07
<u>Controlo 2</u>			
Média		147	147
DP		1,83	1,83
CV		1,26	1,26
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)			
<u>Controlo 1</u>	N = 160		
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
Creatinina (mg/dL)			
<u>Controlo 1</u>	N=80		
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

Tabela 6: Precisão (continuação)

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Glicose (mg/dL)			
<u>Controlo 1</u>	N=80		
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
Potássio (mmol/L)			
<u>Controlo 1</u>	N = 120		
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
Sódio (mmol/L)			
<u>Controlo 1</u>	N = 80		
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
Bilirrubina total (mg/dL)			
<u>Controlo 1</u>	N = 80		
Média		0,8	0,8
DP		0,06	0,07
CV		8,0	9,3
<u>Controlo 2</u>			
Média		5,2	5,2
DP		0,09	0,15
CV		1,7	2,8
Dióxido de carbono total (mmol/L)			
<u>Controlo 1</u>	N = 120		
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
Proteína total (mg/dL)			
<u>Controlo 1</u>	N = 80		
Média		6,8	6,8
DP		0,05	0,08
CV		0,8	1,2
<u>Controlo 2</u>			
Média		4,7	4,7
DP		0,09	0,09
CV		2,0	2,0

Tabela 6: Precisão (continuação)

Analito	Tamanho da amostra	Intra-ensaio	Total
Azoto ureico (mg/dL)			
<u>Controlo 1</u>			
	N = 80		
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

Coefficiente

Foram obtidas e analisadas amostras de sangue total heparinizado e soro no Analisador Químico de Sangue Piccolo e por método(s) comparativo(s). As amostras de sangue total foram analisadas pelo Analisador Químico de Sangue Piccolo nos locais de colheita e as amostras de soro foram analisadas pelo Analisador Químico de Sangue Piccolo e por métodos comparativos. Em alguns casos, foram utilizadas amostras com elevada e reduzida suplementação para cobrir o intervalo dinâmico. As amostras foram selecionadas de modo a cumprir os valores de distribuição da diretriz NCCLS EP9-A.⁸² A Tabela 7 apresenta estatísticas de correlação representativas.

Tabela 7: Correlação do Analisador Químico de Sangue Piccolo com método(s) comparativo(s)

	Coefficiente de correlação	Declive	Inter-cepção	EPE	N	Intervalo da amostra (mmol/L)	Método comparativo
Alanina aminotransferase (U/L)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10–174	Paramax
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10–174	Technicon
Albumina (g/dL)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1–5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5–5,0	Beckman
Fosfatase alcalina (U/L)	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27–368	Paramax
	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26–150	Technicon
Aspartato aminotransferase (U/L)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13–111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,9	46	13–252	DAX™
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
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
Potássio (mmol/L)	0,969	0,863	0,6	0,14	58	2,0–6,8	Radiometer KNA™ 2

Tabela 7: Correlação do Analisador Químico de Sangue Piccolo com o método(s) comparativo(s) (continuação)

Sódio (mmol/L)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116–154	Radiometer KNA™ 2
Dióxido de carbono total (mmol/L)	0,947	0,903	2,4	0,84	60	6–39	Cobas Fara
Proteína total (g/dL)	0,849	0,932	0,6	0,19	251	5,7–9,2	Paramax
	0,873	0,935	0,3	0,16	92	6,5–9,2	Beckman
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.

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 discos com amostras aleatorizadas e com ocultação. As amostras consistiam em pools de soro preparados a três níveis para cada um dos catorze analitos: ALT, albumina, ALP, AST, cálcio, cloreto, creatinina, glicose, potássio, sódio, bilirrubina total, dióxido de carbono total, proteína total e azoto ureico no sangue (BUN). Os participantes não receberam qualquer formação sobre a utilização do teste. No total, foram inscritos aproximadamente 60 participantes de 3 locais, representando uma população demográfica (educação, idade, sexo, etc.) variada.

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

Alanina aminotransferase (ALT)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	45,4 U/L	98,9 U/L	184,3 U/L
%CV	3,7%	1,7%	1,5%
Intervalo observado	42–53	96–103	175–191
Percentagem de resultados dentro do intervalo $\pm 15,0\%^*$	98,4% 61/62 IC de 95%: 91,3% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% 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 10 U/L – 47 U/L.

Albumina (ALB)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	3,0 g/dL	3,5 g/dL	4,2 g/dL
%CV	2,7%	2,5%	1,8%
Intervalo observado	2,9–3,2	3,3–3,7	4,0–4,4
Percentagem de resultados dentro do intervalo $\pm 12,5\%$	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Fosfatase alcalina (ALP)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	94,5 U/L	171,5 U/L	337,5 U/L
%CV	5,2%	3,2%	2,4%
Intervalo observado	85–106	160–184	287–388
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Aspartato aminotransferase (AST)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	56,0	120,4	276,3
%CV	2,4%	1,1%	1,0%
Intervalo observado	54–60	117–124	266–285
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Cálcio (CA)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	8,0	10,5	13,1
%CV	1,7%	1,5%	1,4%
Intervalo observado	7,7–8,4	10,1–11,0	12,6–13,4
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±6,3%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Cloreto (CL⁻)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	94,6	106,0	115,5
%CV	1,8	1,4	1,5
Intervalo observado	90–100	102–108	110–119
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±2,4%	91,9% 57/62 IC de 95%: 82,2% a 97,3%	96,8% 60/62 IC de 95%: 88,8% a 99,6%	95,2% 59/62 IC de 95%: 86,5% a 99,0%

Creatinina (CRE)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	0,89	2,07	6,89
%CV	11,0	5,0	1,6
Intervalo observado	0,7–1,2	1,8–2,3	6,5–7,2
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	93,6% 58/62 IC de 95%: 84,3% a 98,2%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Glicose (GLU)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	95,2	130,3	365,8
%CV	1,1%	1,0%	0,8%
Intervalo observado	93–98	125–133	351–373
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±10,4%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Potássio (K⁺)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	3,4	5,7	7,2
%CV	3,3	2,5	2,0
Intervalo observado	3,2–3,7	5,2–5,9	6,7–7,5
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±8,6%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Sódio (NA⁺)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	122,1	140,8	157,5
%CV	1,0	0,8	1,0
Intervalo observado	118–127	138–143	154–162
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±3,1%	98,4% 61/62 IC de 95%: 91,3% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Bilirrubina total (TBIL)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	0,86 mg/dL	2,5 mg/dL	5,7 mg/dL
%CV	6,1%	2,6%	1,8%
Intervalo observado	0,8–1,0	2,3–2,6	5,4–5,9
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Dióxido de carbono total (tCO₂)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	20,3	27,6	34,4
%CV	5,1	4,6	3,7
Intervalo observado	18–23	23–30	32–38
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±14,7%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	98,4% 61/62 IC de 95%: 91,3% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Proteína total (TP)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	4,8 g/dL	5,7 g/dL	7,1 g/dL
%CV	2,0%	1,5%	1,5%
Intervalo observado	4,6–5,3	5,3–5,9	6,7–7,5
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±5,9%	98,4% 61/62 IC de 95%: 91,3% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

Azoto ureico no sangue (BUN)

	Nível 1	Nível 2	Nível 3
N	62	62	62
Média	15,1	41,0	72,2
%CV	2,3	2,5	1,8
Intervalo observado	14–16	37–43	68–75
Percentagem de resultados dentro do intervalo ±15,0%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%	100% 62/62 IC de 95%: 94,2% a 100%

13. Símbolos



Data de validade



Número de catálogo



Código do lote



Dispositivo médico de **diagnóstico** in vitro



Consultar instruções de uso



Fabricante



Não reutilizar

Número X dos dispositivos de teste do kit



Sequência de fabrico



Número de série

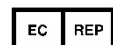


Cuidado



Limite de temperatura

PN:
Número da peça



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Denota conformidade com diretivas europeias especificadas



Estrutura do Código de Barras UDI no formato padrão do Código de Barras da Indústria da Saúde (HIBC)



Unique Device Identifier (UDI - Identificador Único de Dispositivo) na forma humana e legível por máquina, utilizado para identificar adequadamente dispositivos médicos através da sua distribuição e utilização



Recolha separada de resíduos para este artigo eletrônico indicado; Equipamento fabricado/colocado no mercado após 13 de agosto de 2005; indica a conformidade com o artigo 14(4) da Diretiva 2012/19/UE (WEEE - Diretiva de Resíduos de Equipamentos Elétricos e Eletrónicos) para a União Europeia (UE).

14. Bibliografía

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. *Arch Biochem* 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AP, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. *J Biol Chem* 1921; 49: 93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. *J Biol Chem* 1921; 49: 109-113.
8. Wolfson WQ, et al. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. *Am J Clin Pathol* 1948; 18: 723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. *Clin Chem* 1961; 7: 626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. *Clin Chem* 1966; 12: 414-417.
11. Gendler SM. Albumin. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation* 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. *Clin Chim Acta* 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromocresol purple for determination of albumin in serum. *Clin Chem* 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromocresol purple. *Clin Chem* 1978; 24: 80-86.
15. King EJ and Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 1934; 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *J Clin Pathol* 1954; 7: 322-326.
17. Ohmori Y. Uber die Phosphomonoesterase. *Enzymologia* 1937; 4: 217-231.
18. Fujita H. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. *J Biochem, Japan* 1939; 30: 69-87.
19. Petitclerc C, Delisle M, Martel M. Mechanism of action of Mg²⁺ and Zn²⁺ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn²⁺ and Mg²⁺ alkaline phosphatase. *Can J Biochem* 1975; 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem* 1983; 29: 751-761.
21. Bowers GN Jr, et al. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. *Clin Chim Acta* 1979; 98: 163F-174F.
22. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest* 1955; 34: 131-133.
23. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1977; 23: 887-899.
24. Bergmeyer HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. *Clin Chem* 1978; 24: 720-721.
25. 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.
26. 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.
27. Katzman E, et al. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. *J. Biol Chem* 1937; 118: 539-544.
28. 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.
29. Kessler G, et al. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. *Clin Chem* 1964; 10: 686-703.
30. Michaylova V, et al. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971; 53: 194-198.

14. Bibliografia (continuação)

31. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium *Ann NY Acad Sci* 1978; 307: 86-112.
32. Ono T, et al. A new enzymatic assay of chloride in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 552-553.
33. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbestimmung im serum. *Z Klin Chemi Clin Biochem.* 1970; 8: 582-587.
34. Haecckel R, et al. Simplified determinations of the "true" creatinine concentration in serum and urine. *J Cklin Chem Clin Biochem.* 1980; 18: 385-394.
35. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. 1975; 21: 1422-1426.
36. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. 1982; 28: 114-117.
37. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. 1983; 29: 1494-1496.
38. 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.
39. Folin O, et al. A system of blood analysis. *J Biol Chem.* 1919; 38: 81-110.
40. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. *J Biol Chem.* 1937; 117: 771-776.
41. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol.* 1944; 153: 375-380.
42. Kaplan LA. Glucose. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
43. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clin Chem* 1989; 35: 817-820.
44. 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: 846-847.
45. 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: 1528-1531.
46. Helgersson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Amer Chem Soc* 1989; 111: 6339-6350.
47. Kumar A, et al. Chromogenic ionophore-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. *Clin Chem* 1988; 34: 1709-1712.
48. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. *Clin Chem* 1988; 34: 2295-2298.
49. Malloy HT and Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937; 119: 481-490.
50. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. In: *Selected Methods of Clinical Chemistry*, vol. 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-124.
51. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by *Myrothecium verrucaria* MT-1. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2383-2384.
52. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. *Clin Chem* 1984; 30: 971. (Abstract)
53. Perry B, et al. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. *Clin Chem* 1986; 32: 329-332.
54. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. *Am J. Clin Pathol* 1960; 33: 181-185.
55. 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: 869-872.
56. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
57. Reigler E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. *Z Anal Chem* 1914; 53: 242-245.
58. Weichselbaum, TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Path* 1946; 16: 40-49.
59. Dumas BT, et al. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27: 1642-1650.
60. 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.
61. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. *J Biol Chem*, 1914; 19: 11-228.
62. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*, 1960; 13: 156-159.
63. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. *Clin Chem*, 1962; 8: 130-132.
64. Talke H, et al. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut and serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochensch*, 1965; 43: 174-175.

14. Bibliografia (continuação)

65. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. *Clin Chim Acta*, 1971; 35: 33-37.
66. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Anal Chem*, 1977; 49: 464-469.
67. 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.
68. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2nd ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA: NCCLS, 1992.
69. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.
70. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
71. Overfield CV, et al. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. *Clin Chim Acta* 1972; 39:35-40.
72. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988; 34:2111-4.
73. Sherwin JE, Oberholte R. Bilirubin. In: *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*, Kaplan LA, Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
74. Henry RJ, et al. *Clinical Chemistry: Principles and Technics*, 2nd ed. New York: Harper and Row, 1974: 417-421; 1058-1059.
75. Scott MG. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
76. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
77. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
78. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. NCCLS Document C28-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2000.
79. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1999 pp. 676-684.
80. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
81. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
82. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.