

Bilirubin D

Finalidade

Método DPD para a determinação de bilirrubina direta em soro ou plasma.

Significado clínico

A bilirrubina é um produto da degradação do grupo heme pelo sistema mononuclear fagocitário e existe em duas formas: conjugada e não conjugada.

A bilirrubina não conjugada (indireta) é transportada pela albumina ao fígado, onde conjuga-se com ácido glucurônico nos hepatócitos convertendo-se em bilirrubina conjugada (direta) que é excretada, desta forma, através da bÍlis.

Os níveis de bilirrubina direta são medidos para investigar a causa de uma icterícia pré-hepática, hepática ou pós-hepática. Observam-se níveis aumentados de bilirrubina direta em doenças hepatocelulares tais como hepatite e em casos de colestase pós-hepática.

Fundamentos do método

A bilirrubina direta reage com o sal de diclorofenildiazônio (DPD) produzindo um azo composto cor vermelho em solução ácida.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução aquosa contendo ácido clorídrico 17 mmol/L.

B. Reagente B: solução aquosa contendo sal de diclorofenildiazônio 0,4 mmol/L em ácido clorídrico 17 mmol/L.

Reagentes não fornecidos

Laborcal da Laborlab.

Instruções de uso

Reagente A: pronto para uso.

Reagente B: pronto para uso. Este reagente pode desenvolver uma leve tonalidade verde-amarronzada que não afeta a sua reatividade.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clÍnicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem.

Amostra

Soro ou plasma

a) Coleta: obter da maneira habitual. Manter protegido da luz natural ou artificial, cobrindo o tubo com papel escuro.

b) Aditivos: caso de que a amostra seja plasma, deve-se utilizar heparina para sua obtenção.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente fresca. Caso de não realizar-se o ensaio na hora, a amostra deve ser conservada até 48 horas sob refrigeração (2-10°C). A ação da luz pode destruir em uma hora até 50% da bilirrubina presente na amostra. Por tal motivo deve-se proteger cuidadosamente da luz.

Interferências

Amostras com hemólise produzem valores de bilirrubina falsamente diminuídos.

Não se observam interferências por lipemia até 500 mg/dL (5 g/L) de triglicérides. No entanto, amostras hiperlipêmicas produzem supervalorização dos resultados.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro

- Micropipetas ou pipetas para medir os volumes indicados

- Cronômetro

- Analisador automático

Condições de reação

- Comprimento de onda: 546 nm (520 - 550 nm)

- Temperatura de reação: 25°C (30°C ou 37°C)

- Tempo de reação: 6 minutos

- Volume de amostra: 80 uL

- Volume final de reação: 1,28 mL

Procedimento

Em 3 tubos marcados BR (Branco de Reagentes), BM (Branco de Amostra/Calibrador/Controle), e M (Amostra/Calibrador/Controle), colocar:

	BR	BM	M
Reagente A	1 mL	1,2 mL	1 mL
Água destilada	80 uL	-	-
Amostra	-	80 uL	80 uL
Misturar e incubar exatamente 60 segundos. Após, acrescentar:			
Reagente B	0,2 mL	-	0,2 mL

Misturar e incubar 5 minutos. Logo após, ler em espectrofotômetro a 546 nm (520 - 550 nm), levando o aparelho a zero com o Branco de Reagente (BR). Leitura 1 (DO₁): BM (Branco de Amostra) ou BC (Branco de Calibrador). Leitura 2 (DO₂): M (Amostra) ou C (Calibrador).

Cálculo dos resultados

Bilirrubina Direta (mg/dL) = (DO_{2 Amostra} - DO_{1 Amostra}) x f

onde:

$$f = \frac{X^* \text{ mg/dL}}{\text{DO}_{2 \text{ Calibr.}} - \text{DO}_{1 \text{ Calibr.}}}$$

(*) concentração de bilirrubina direta no **Laborcal** da Laborlab.

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Amostra

DO_{1 Branco da amostra}: 0,068

DO_{2 Amostra}: 0,186

Absorbância da amostra: 0,186 - 0,068: 0,118

Calibrador

DO_{1 Branco do Calibrador}: 0,072

DO_{2 Calibrador}: 0,146

Absorbância do Calibrador: 0.146 - 0,072: 0,074

Se o valor de Bilirrubina direta no **Laborcal** é 0,22 mg/dL:

$$\text{Fator} = \frac{0,22 \text{ mg/dL}}{0,074} = 2,98$$

Bilirrubina direta (mg/dL) = 0,118 x 2,98 = 0,35 mg/dL

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol 1** e **Laborcontrol 2** da Laborlab) com concentrações conhecidas de bilirrubina direta, com cada determinação.

Valores de referência

Bilirrubina direta em soro ou plasma:

Adultos: até 0,2 mg/dL

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão de unidades ao sistema SI

Bilirrubina (umol/L) = Bilirrubina (mg/dL) x 0,171

Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

A ação da luz, sobre as amostras e soluções padrão, pode destruir em 1 hora até o 50% da bilirrubina presente.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: aplicando o protocolo EP-15A do CLSI, se analisaram dois níveis de atividade, cada um por quadruplicado durante 5 dias. Com os dados obtidos, calcularam-se as precisões intra-ensaio e total.

Precisão intra-ensaio (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
0,69 mg/dL	± 0,0075 mg/dL	1,09%
2,43 mg/dL	± 0,0255 mg/dL	1,05%

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
0,69 mg/dL	± 0,015 mg/dL	2,23%
2,43 mg/dL	± 0,0249 mg/dL	1,03%

b) Linearidade: a reação é linear até 12,0 mg/dL (120 mg/L) de bilirrubina direta. Para valores superiores repetir a determinação com amostra diluída 1:2 ou 1:4 com solução fisiológica e multiplicar o resultado obtido por 2 ou 4 respectivamente.

c) Limite de detecção: depende do fotômetro empregado e da comprimento de onda. Em espectrofotômetros com cubetas de faces paralelas de 1 cm de espessura, para um ΔA de 0,001 a mudança mínima de concentração detectável será de 0,012 mg/dL.

Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado. Para a calibração deve-se utilizar **Laborcal** da Laborlab.

Apresentação

1 x 80 mL **Reagente A**

1 x 16 mL **Reagente B**

(Cód. 1770030)

Referências

- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 605, 2001.
- Burtis, CA; Ashwood, ER - Tietz Textbook of Clin.Chem. 3rd Ed.:1170, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado na Comunidade Européia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Caústico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo



Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos - SP - Brasil - CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277
sac@laborlab.com.br
www.laborlab.com.br