

Bilirubin T

Finalidade

Método DPD para a determinação de bilirrubina total em soro ou plasma

Significado clínico

A bilirrubina, composto produzido pela degradação da hemoglobina, é captado pelo fígado para sua conjugação e excreção biliar. As alterações hepatocelulares e obstruções biliares podem provocar hiperbilirrubinemias.

A eritroblastose fetal ou anemia hemolítica do recém nascido é uma patologia provocada pela incompatibilidade materno-fetal. Nestas patologias se produz a destruição massiva de glóbulos vermelhos que resulta num considerável aumento da bilirrubina sérica com o conseqüente risco de espalhar-se o pigmento ao sistema nervoso central, produzindo toxicidade. Porém, a determinação de bilirrubina no recém nascido é muito importante.

Fundamentos do método

A bilirrubina indireta, unida à albumina, é liberada por um tensoativo. A bilirrubina total reage com o sal de diclorofenildiazônio (DPD) produzindo um azocomposto cor vermelho em solução ácida.

Reagentes fornecidos

A. Reagente A: solução aquosa contendo ácido clorídrico 150 mmol/L e tensoativo.

B. Reagente B: solução aquosa contendo sal de diclorofenildiazônio 1,5 mmol/L em ácido clorídrico 150 mmol/L.

Reagentes não fornecidos

Laborcal da Laborlab.

Instruções de uso

Reagentes Fornecidos: prontos para uso. Antes de utilizar, misturar por inversão.

O **Reagente B** pode desenvolver turbidez que não afeta a sua reatividade.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Os reagentes são corrosivos. R34: provoca queimaduras. S24/25: evitar o contato com os olhos e a pele. S26: caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com abundante água e procurar um serviço médico. S28: caso de contato com a pele, lavar imediatamente com abundante água. S37/39: utilizar luvas adequadas e proteção apropriadas para os olhos/face.

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 a amostra seja plasma, deve-se utilizar heparina ou EDTA para sua obtenção.

c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente fresca. Caso não realize 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 da luz.

Interferências

Não são observadas interferências por hemólise até uma concentração de hemoglobina de 500 mg/dL (0,5 g/dL) nem lipemia até uma concentração de 500 mg/dL (5 g/L) de triglicérides. No

entanto, amostras hiperlipêmicas ou com hemólise moderada podem conduzir a resultados errados.

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: 5 minutos 30 segundos

- 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 30 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).

Estabilidade da mistura de reação final

A cor é estável 30 segundos pelo que a absorbância deve ser lida dentro deste tempo.

Cálculo dos resultados

Bilirrubina Total (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 total no **Laborcal** da Laborlab.

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Amostra

DO_{1 Branco da amostra}: 0,048

DO_{2 Amostra}: 0,247

Absorbância da amostra: 0,247 - 0,048 = 0,199

Calibrador

DO_{1 Branco do Calibrador}: 0,075

DO_{2 Calibrador}: 0,166

Absorbância do Calibrador: 0,166 - 0,075 = 0,091

Se o valor de Bilirrubina total no **Laborcal** é 0,52 mg/dL

$$\text{Fator} = \frac{0,52 \text{ mg/dL}}{0,091} = 5,71$$

Bilirrubina total (mg/dL) = 0,199 x 5,71 = 1,13 mg/dL

Método de controle de qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**La-**

borcontrol 1 e Laborcontrol 2 da Laborlab) com concentrações conhecidas de bilirrubina total, com cada determinação.

Valores de referência

Bilirrubina total em soro ou plasma:

- Adultos: até 1,0 mg/dL
- Recém nascidos:

	Nascidos a termo	Prematuros
Sangue de cordão	< 2,0 mg/dL	< 2,0 mg/dL
Até as 24 hs	1,4 - 8,7 mg/dL	< 8,0 mg/dL
Até 48 hs	3,4 - 11,5 mg/dL	< 12,0 mg/dL
Do 3º ao 5º dia	1,5 - 12,0 mg/dL	< 16,0 mg/dL

Os valores começam logo diminuindo para alcançar o nível médio do adulto ao cumprir um mês do nascimento. Nos prematuros, os níveis de bilirrubina se retardam mais para alcançar a normalidade, dependendo do grau de imaturidade hepática.

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, por cima dos soros e por cima das 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 três níveis de concentração, 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.
0,85 mg/dL	± 0,028 mg/dL	3,29 %
4,61 mg/dL	± 0,031 mg/dL	0,67 %
16,45 mg/dL	± 0,121 mg/dL	0,74 %

Precisão total (n = 20)

Nível	D.P.	C.V.
0,85 mg/dL	± 0,030 mg/dL	3,53 %
4,61 mg/dL	± 0,077 mg/dL	1,67 %
16,45 mg/dL	± 0,315 mg/dL	1,92 %

b) Linearidade: a reação é linear até 30 mg/dL de bilirrubina. 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 do 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 0,031 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 o **Laborcal** da Laborlab.

Apresentação

1 x 80 mL Reagente A

1 x 16 mL Reagente B

(Cód. 1770040)

Referências

- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 966, 2001.
- Weigl, E.; Bach, H.; Krieg, D. - Med. Klin. 70/15:664 (1975).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry - Saunders Co., 3rd ed. (2001).

SÍMBOLOS



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

EC REP

Representante autorizado na Comunidade Européia

IVD

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

Cont.

Conteúdo

LOT

Número de lote



Elaborado por:

Xn



Nocivo



Corrosivo / Caústico

XI



Irritante



Consultar as instruções de uso

Calibr.

Calibrador

CONTROL

Controle

CONTROL +

Controle Positivo

CONTROL -

Controle Negativo

REF

Número de catálogo

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.



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