



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 bile. 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 de cor vermelha 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 a 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 ser utilizada heparina para sua obtenção.
c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente fresca. Caso o ensaio não seja realizado 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 ser protegida cuidadosamente da luz.

Interferências

Amostras com hemólise produzem valores de bilirrubina falsamente diminuídos. Não são observadas 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

$$\text{Bilirrubina Direta (mg/dL)} = (\text{DO}_2 \text{ Amostra} - \text{DO}_1 \text{ Amostra}) \times f$$

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

DO₁ Branco da amostra: 0,068

DO₂ Amostra: 0,186

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

Calibrador

DO₁ Branco do Calibrador: 0,072

DO₂ 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:

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

$$\text{Bilirrubina direta (mg/dL)} = 0,118 \times 2,98 = 0,35 \text{ mg/dL}$$

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

$$\text{Bilirrubina (umol/L)} = \text{Bilirrubina (mg/dL)} \times 0,171$$

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 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 0,012 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", AACCC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

SÍMBOLOS

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

 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 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

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