



Bilirrubina Direta Vet

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 conjugam-se com ácido glicurônico nos hepatócitos convertendo-se em bilirrubina conjugada (direta) que é excretada, desta forma, através da bile.

O aumento da bilirrubina conjugada (direta) ocorre na perda da funcionalidade hepato-celular devido a doença infecciosa, dano tóxico ou obstrução do trato biliar. O aumento simultâneo da bilirrubina livre (indireta) e da conjugada (direta) ocorre na perda da funcionalidade hepato-celular, obstrução do fluxo biliar ou após uma hemólise intravascular aguda grave.

É recomendável que todos os animais com suspeita de icterícia tenham a bilirrubina plasmática mensurada.

Fundamento do método

A bilirrubina direta reage com o sal de diclorofenildiazônio (DPD) produzindo um azo composto 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 Vet 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* veterinário.

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

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulamentação 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.

- Coleta: obter da maneira habitual. Manter protegido da luz natural ou artificial, cobrindo o tubo com papel escuro.
- Aditivos: caso seja utilizado o plasma, utilizar heparina para sua obtenção.
- Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferencialmente recém coletada. Caso não seja possível realizar o ensaio na hora, a amostra deve ser conservada por 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 isto ela deve ser protegida 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 triglicerídeos. No entanto, amostras hiperlipêmicas produzem supervalorização dos resultados.

Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro;
- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados;
- Cronômetro e,
- Analisador automático

Condições da reação

- Comprimento de onda: 546 nm (520 – 550 nm).
- Temperatura de reação: 37°C
- Tempo de Reação: 6 minutos.
- Volume de amostra: 80 µL
- Volume final da reação: 1,28 mL

Procedimento

Em três tubos marcados como BR (Branco de Reagente), BA (Branco de Amostra/Calibrador/Controle) e A (Amostra/Calibrador/Controle):

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

Misturar e incubar por 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): BA (Branco de Amostra) ou BC (Branco de Calibrador). Leitura 2 (DO₂): A (Amostra) ou C (Calibrador).

Cálculo dos Resultados

Bilirrubina Direta (mg/dL) = (DO₂ Amostra – DO₁ Amostra) x f
Onde:

$$f = \frac{X^* \text{ (mg/dL)}}{DO_2 \text{ Calibr.} - DO_1 \text{ Calibr.}}$$

*Concentração de bilirrubina direta no Laborcal Vet 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 Vet for 0,22 mg/dL

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

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



Bilirrubina Direta Vet

Método de Controle de Qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Laborcontrol Vet 1 e 2**) com atividades conhecidas de bilirrubina direta, com cada determinação

Valores de Referência

Espécie (mg/dL)

Canina	0,06 – 0,12
Bovina	0,04 – 0,44
Equina	0 – 0,4

Os valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população de animais atendida, 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 nas amostras e nas soluções padrão, pode destruir em 1 hora até 50% da bilirrubina presente.

Desempenho

a) Reprodutibilidade: processando 20 determinações simultaneamente de uma amostra canina e outra equina com valores dentro do intervalo de referência, obteve-se o seguinte:

Amostra Canina:

Concentração	D.P.	C.V.
0,2	0,007	3,5

Amostra Equina:

Concentração	D.P.	C.V.
0,33	0,029	8,8

- b) Linearidade: a reação é linear até 12,0 mg/dL (120 mg/L) de bilirrubina direta. Para valores superiores repetir a determinação com a 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 ser utilizado o **Laborcal Vet** da Laborlab.

Apresentação

1 x 50 mL Reagente A

1 x 10 mL Reagente B

(Cód. 1774034)

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.
- 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).

- González, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

- Kerr, Morag G. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária 2ª ed., Roca: São Paulo, 2003.

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 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



Laborlab 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

Revisão 01

Julho, 2020