



Bilirrubina Total

Vet

Finalidade

Método DPD para a determinação de bilirrubina total 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 glucurônico nos hepatócitos convertendo-se em bilirrubina conjugada (direta) que é excretada, desta forma, através da bile.

Concentrações elevadas de bilirrubina podem ocorrer devido à hiperbilirrubinemia por jejum, hemólise intravascular, insuficiência hepática e doença biliar obstrutiva.

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

Fundamento 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 vermelha 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 Vet da Laborlab.

Instruções de Uso

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

Reagente B: pronto para uso. Este reagente pode desenvolver turbidez que não afeta a sua reatividade.

Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico *in vitro* veterinário.

Os reagentes são corrosivos. R34: provoca queimaduras. S24/25: evitar o contato com os olhos e a pele. S26: caso haja contato com os olhos, lavar imediatamente com água em abundância e procurar um serviço médico. S28: caso haja contato com a pele, lavar imediatamente com água em abundância. 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 descartados conforme a regulação local vigente.

Estabilidade e instruções de armazenamento

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 ou EDTA 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

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 triglicerídeos. No entanto, amostras hiperlipêmicas ou com hemólise moderada podem conduzir a resultados errados.

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: 5 minutos e 30 segundos.
- 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 30 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).

Estabilidade da mistura de reação final

A cor é estável por 30 segundos, portanto, a absorbância deve ser lida dentro deste tempo.

Cálculo dos Resultados

Bilirrubina Total (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 total no Laborcal Vet da Laborlab.

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Amostra

DO₁ Branco da amostra: 0,048

DO₂ Amostra: 0,247

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

Calibrador

DO₁ Branco do Calibrador: 0,075



Bilirrubina Total

Vet

DO₂ Calibrador: 0,166

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

Se o valor de Bilirrubina total no **Laborcal Vet** for 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 (Laborcontrol Vet 1 e 2) com atividades conhecidas de bilirrubina total, com cada determinação.

Valores de Referência

Espécie (mg/dL)

Canina	0,1 – 0,5
Felina	0,15 – 0,5
Bovina	0,01 – 0,5
Equina	1,0 – 2,0

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:

Nível	D.P.	C.V.
2,490	0,131	5,26
0,630	0,037	5,87

Amostra Equina:

Nível	D.P.	C.V.
0,931	0,070	7,52
2,291	0,129	5,63

- 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 ser utilizado o **Laborcal Vet** da Laborlab.

Apresentação

1 x 50 mL Reagente A

1 x 10 mL Reagente B

(Cód. 1774044)

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).
- 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.

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

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.



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 00

Maior, 2020