



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, razão pela qual 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 de 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 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 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 apropriada 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 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-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 e 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** 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

DO₂ 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 (**Laborcontrol 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 então começam a diminuir até atingir o nível adulto médio um mês após o nascimento. Em prematuros, os níveis demoram mais para atingir o normal, 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, tanto nas amostras quanto nas soluções padrão, é capaz de destruir até 50% da bilirrubina presente em uma hora.

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", AACC Press, 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).

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



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