



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 conjugada-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 triglicerídeos. 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

Bilirrubina Direta (mg/dL) = (DO₂ Amostra - DO₁ Amostra) x 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:

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

Bilirrubina direta (mg/dL) = 0,118 x 2,98 = 0,35 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

Bilirrubina (umol/L) = Bilirrubina (mg/dL) x 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)

4 x 50 mL **Reagente A**
2 x 20 mL **Reagente B**
(Cód. 1779604)

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

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 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



Bilirubin D

Fin y uso

Método DPD para la determinación de bilirrubina directa en suero o plasma

Significación clínica

La bilirrubina es un producto de la degradación del grupo hemo por el sistema mononuclear fagocítico y existe en dos formas, conjugada y no conjugada. La bilirrubina no conjugada (indirecta) es transportada por la albúmina al hígado, donde se conjugará con ácido glucurónico en los hepatocitos convirtiéndose en bilirrubina conjugada (directa), permitiendo de este modo su excreción a través de la bilis. Los niveles de bilirrubina directa se miden para investigar la causa de una ictericia pre-hepática, hepática o post-hepática. Niveles aumentados de bilirrubina directa se observan en enfermedades hepatocelulares tales como hepatitis y en casos de colestasis post-hepática.

Fundamentos del método

La bilirrubina directa reacciona con la sal de diclorofenildiazonio (DPD) formando un azocompuesto de color rojo en solución ácida.

Reactivos provistos

A. Reactivo A: solución acuosa conteniendo ácido clorhídrico 17 mmol/l.

B. Reactivo B: solución acuosa conteniendo sal de diclorofenildiazonio 0,4 mmol/l en ácido clorhídrico 17 mmol/l.

Reactivos no provistos

Laborcal de Laborlab.

Instrucciones para su uso

Reactivo A: listo para usar.

Reactivo B: listo para usar. Este reactivo puede presentar una ligera tonalidad pardusca que no afecta su reactividad.

Precauciones

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

Reactivos Provisos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: obtener de la manera habitual. Proteger de la luz natural o artificial envolviendo el tubo con papel negro.

b) Aditivos: en caso de que la muestra sea plasma, debe usarse heparina para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Muestras con hemólisis producen valores falsamente disminuidos.

- No se observan interferencias por lipemia hasta 5 g/l (500 mg/dl) de triglicéridos. Sin embargo, muestras hiperlipémicas producen resultados erróneos. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. En caso de no efectuarse el ensayo en el momento, la muestra puede conservarse hasta 48 horas en refrigerador (2-10°C).

La acción de la luz es capaz de destruir hasta un 50% de la bilirrubina presente en la muestra, por lo que debe protegerse cuidadosamente.

Material requerido (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Cronómetro
- Analizador automático

Condiciones de reacción

- Longitud de onda: 546 nm (520 - 550 nm)
- Temperatura de reacción: 25°C (30°C o 37°C)
- Tiempo de reacción: 6 minutos
- Volumen de muestra: 80 ul
- Volumen final de reacción: 1,28 ml

Procedimiento

En 3 tubos marcados BR (Blanco de Reactivos), BM (Blanco de Muestra/Calibrador/Control) y M (Muestra/Calibrador/Control), colocar:

	BR	BM	M
Reactivo A	1 ml	1,2 ml	1 ml
Agua destilada	80 ul	-	-
Muestra	-	80 ul	80 ul

Mezclar e incubar exactamente 60 segundos. Luego agregar:

Reactivo B	0,2 ml	-	0,2 ml
-------------------	--------	---	--------

Mezclar e incubar 5 minutos. Inmediatamente después, leer en espectrofotómetro a 546 nm (520 - 550 nm), llevando a cero el aparato con el Blanco de Reactivo (BR). Lectura 1 (DO₁): BM (Blanco de Muestra) o BC (Blanco de Calibrador). Lectura 2 (DO₂): M (Muestra) o C (Calibrador).

Cálculo de los resultados

Bilirrubina Directa (mg/dl) = (DO_{2M} - DO_{1BM}) x f

donde:

$$f = \frac{X^* \text{ mg/dl}}{DO_{2C} - DO_{1BC}}$$

(*) concentración de bilirrubina directa en el **Laborcal**.

Ejemplo:

(Los datos presentados a continuar son ilustrativos)

Muestra

DO_{1 Blanco de muestra}: 0,068

DO_{2 Muestra}: 0,186

Absorbancia de la muestra: 0,186 - 0,068: 0,118

Calibrador

DO_{1 Blanco de Calibrador}: 0,072

DO_{2 Calibrador}: 0,146

Absorbancia del Calibrador: 0,146 - 0,072: 0,074

Si el valor de bilirrubina directa en el **Laborcal** es 0,22 mg/dl:

$$\text{Factor} = \frac{0,22 \text{ mg/dl}}{0,074} = 2,98$$

Bilirrubina directa (mg/dl) = 0,118 x 2,98 = 0,35 mg/dl

Método de control de calidad

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Laborcontrol 1 y Laborcontrol 2** de Laborlab) con concentraciones conocidas de bilirrubina directa, con cada determinación.

Valores de referencia

Bilirrubina directa en suero o plasma:

Adultos: hasta 0,2 mg/dl

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Conversion de unidades al sistema SI

Bilirrubina (umol/l) = Bilirrubina (mg/dl) x 0,171

Limitaciones del procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

La acción de la luz, tanto sobre los sueros como sobre las soluciones standard, es capaz de destruir en una hora hasta el 50% de la bilirrubina presente.

Performance

a) Reproducibilidad: se aplicó el protocolo EP15-A del CLSI. Se analizaron dos niveles de concentración, cada uno por cuadruplicado durante 5 días. Con los datos obtenidos, se calcularon la precisión intraensayo y total.

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
0,69 mg/dl	± 0,0075 mg/dl	1,09%
2,43 mg/dl	± 0,0255 mg/dl	1,05%

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
0,69 mg/dl	± 0,015 mg/dl	2,23%
2,43 mg/dl	± 0,0249 mg/dl	1,03%

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 120 mg/l (12 mg/dl) de bilirrubina directa. Para valores superiores, repetir la determinación empleando muestra diluida 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica, multiplicando el resultado obtenido por 2 ó 4 según el caso.

c) Límite de detección: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un ΔA de 0,001 el mínimo cambio de concentración detectable será de 0,012 mg/dl.

Parámetros para analizadores automáticos

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso. Para la calibración, debe usarse **Laborcal** de Laborlab.

Presentación

1 x 80 mL **Reactivo A**
1 x 16 mL **Reactivo B**
(Cód. 1770030)

4 x 50 mL **Reactivo A**
2 x 20 mL **Reactivo B**
(Cód. 1779604)

Bibliografía

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

SÍMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control 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