

BILIRRUBINAS DCA

Kit para determinação das bilirrubinas direta e total por metodologia colorimétrica.

REF. 431

MS 80022230104



MÉTODO

Colorimétrico - Dicloroanilina.

FINALIDADE

Reagentes para determinação das bilirrubinas direta e total no soro e plasma. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

Bilirrubina Direta - BD: A amostra é solubilizada em meio ácido e a bilirrubina direta (BD) reage com a dicloroanilina diazotada formando azobilirrubina, cuja intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração de bilirrubina direta da amostra analisada.

Bilirrubina Total - BT: A bilirrubina indireta (não conjugada) é desligada da albumina e solubilizada por ação do acelerador, sendo dosada juntamente com a bilirrubina direta por formação de azobilirrubina na reação com a dicloroanilina diazotada.

A intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração de bilirrubina total da amostra analisada.

Por diferença entre BT e BD tem-se o valor da bilirrubina indireta (BI).

SIGNIFICADO CLÍNICO

O metabolismo da bilirrubina inicia-se com a degradação das hemácias no sistema retículo-endotelial em que a hemoglobina liberada é degradada em moléculas de globina e heme. O grupo heme é então catabolizado para formar biliverdina, que é posteriormente transformado em bilirrubina.

A bilirrubina é portanto um composto tetrapirrólico formado no SRE através da degradação da hemoglobina. Esta forma de bilirrubina, denominada de bilirrubina não conjugada ou indireta circula na corrente sanguínea ligada à albumina. No fígado, essa bilirrubina indireta (não conjugada) é conjugada com o glicuronídeo, resultando na bilirrubina conjugada ou direta que é excretada do fígado para a bile e, através do ducto biliar comum atinge o segmento duodenal do intestino delgado.

A icterícia compreende a coloração visível dos tecidos pela bile e geralmente ocorre quando os níveis de bilirrubina atingem taxas acima de 2,5 mg/dL.

As causas mais comuns de aumento da bilirrubina direta são as doenças hepatocelulares e as obstruções das vias biliares.

Valores altos de bilirrubina indireta ocorrem nas seguintes situações:

- Quando há um aumento na produção de bilirrubina como nas diversas causas de hemólise.
- Quando há uma diminuição no transporte da bilirrubina por ação de medicamentos e anticorpos.
- Por defeito na captação da bilirrubina (deficiência ou bloqueio das ligandinas).
- Por defeito na conjugação da bilirrubina (icterícia fisiológica do recém-nascido, doença de Gilbert, etc).

QUALIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Metodologia colorimétrica de ponto final, simples, de grande especificidade para a determinação das bilirrubinas total e direta, facilmente adaptável em analisadores automáticos.
- O produto emprega reagentes líquidos, prontos para uso.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Conservar entre 2-8 °C.

- BD-R1** - Contém ácido sulfâmico 92 mmol/L, cloreto de sódio 148 mmol/L e EDTA 0,092 mmol/L.
- BD-R2** - Contém ácido clorídrico 680 mmol/L e dicloroanilina diazotada 0,047 mmol/L.
- BT-R1** - Contém 2-fenoxietanol 0,8 mmol/L e surfactante.
- BT-R2** - Contém ácido clorídrico 30 mmol/L e dicloroanilina diazotada 1,0 mmol/L.

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade impressa no rótulo do produto e na caixa quando conservados na temperatura recomendada, bem vedados e se evita a contaminação durante o uso.

REAGENTE NÃO FORNECIDO

Calibrador (Gold Analisa Cat. 410) - Reagente empregado na calibração periódica do kit de Bilirrubinas-PP. Deverá ser adquirido separadamente.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro (leitura entre 530 e 550 nm);
- Banho-maria ou termostatizador com temperatura regulada em 37 °C;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

AMOSTRA

SORO ou PLASMA (EDTA e heparina).

Não usar amostras hemolisadas.

Quando protegido da luz o analito é estável 4 dias entre 2 -8 °C.

Nota: Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

INTERFERÊNCIAS

A hemólise interfere nos resultados.

Valores de triglicérides até 1500 mg/dL não produzem interferências significativas na bilirrubina total e valores até 1000 mg/dL na bilirrubina direta.

PROCEDIMENTO DO TESTE

A. Condições de Reação

Leitura: Comprimento de onda 546 nm (530 a 550 nm)

Tipo de Reação: Ponto final

Notas

- Para a calibração das dosagens de bilirrubina total e direta, utilizar o produto Calibrador Cat. 410 da Gold Analisa.
 - Fator de Calibração esperado para BD: 13,5 - 16,5.
 - Fator de Calibração esperado para BT: 25,7 - 35,0.
 - Ver o preparo do Calibrador nas Instruções de Uso do produto.
 - As concentrações de bilirrubina total e bilirrubina direta vêm estipuladas em uma tabela anexa às Instruções de Uso do Calibrador - Cat. 410.
 - As técnicas de análise apresentadas (BD e BT) são aplicáveis nos equipamentos semi-automáticos e espectrofotômetros.
- No site Gold Analisa estão disponíveis protocolos para analisadores automáticos e alguns semi-automáticos.

B. Técnica de Análise da Bilirrubina Direta - BD

1. Identificar 4 tubos de ensaio e proceder:

Tubos	Branco Calib.	Calibrador	Branco Teste	Teste
BD-R1	1000 µL	800 µL	1000 µL	800 µL
Amostra	-----	-----	80 µL	80 µL
Calibrador	80 µL	80 µL	-----	-----

2. Homogeneizar e incubar em banho-maria a 37 °C por 5 minutos.

3. Adicionar aos tubos:

Tubos	Branco Calib.	Calibrador	Branco Teste	Teste
BD-R2	-----	200 µL	-----	200 µL

4. Homogeneizar e incubar em banho-maria a 37 °C por 5 minutos.

5. Ler a absorbância do Branco Calibrador (Branco Calib.), Calibrador, Branco Teste e Teste em 546 nm (530 a 550 nm), acertando o Zero com água deionizada.

A cor é estável por 30 minutos.

Cálculos

CC = Concentração do Calibrador (Ver valor de BD na tabela do Calibrador)

CT = Concentração de BD do Teste

ABC = Absorbância do Branco do Calibrador

AC = Absorbância do Calibrador

ABT = Absorbância do Branco do Teste

AT = Absorbância do Teste

Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, calcular a concentração do teste através do Fator de Calibração (FC).

$FC = CC \div \Delta C$

$CT = FC \times \Delta T$

Exemplo

Se $CC = 1,9$ mg/dL (Concentração de BD na tabela do Calibrador)

Se $ABC = 0,040$ e $AC = 0,174$

$\Delta C = (AC - ABC) = 0,174 - 0,040 = 0,134$

Se $ABT = 0,010$ e $AT = 0,105$

$\Delta T = (AT - ABT) = 0,105 - 0,010 = 0,095$

$FC = CC \div \Delta C = 1,9 \div 0,134 = 14,18$

$CT (BD \text{ mg/dL}) = FC \times \Delta T = 14,18 \times 0,095 = 1,35$ mg/dL

C. Técnica de Análise da Bilirrubina Total - BT

1. Identificar 4 tubos de ensaio e proceder:

Tubos	Branco Calib.	Calibrador	Branco Teste	Teste
BT-R1	1000 µL	800 µL	1000 µL	800 µL
Amostra	-----	-----	50 µL	50 µL
Calibrador	50 µL	50 µL	-----	-----

2. Homogeneizar e incubar em banho-maria a 37 °C por 5 minutos.

3. Adicionar aos tubos:

Tubos	Branco Calib.	Calibrador	Branco Teste	Teste
BT-R2	-----	200 µL	-----	200 µL

4. Homogeneizar e incubar em banho-maria a 37 °C por 5 minutos.
 5. Ler a absorbância do Branco Calibrador (Branco Calib.), Calibrador, Branco Teste e Teste em 546 nm (530 a 550 nm), acertando o Zero com água deionizada.
 A cor é estável por 30 minutos.

Cálculos

CC = Concentração do Calibrador (Ver valor de BT na tabela do Calibrador)
 CT = Concentração de BT do Teste
 ABC = Absorbância do Branco do Calibrador
 AC = Absorbância do Calibrador
 ABT = Absorbância do Branco do Teste
 AT = Absorbância do Teste
 Como a metodologia obedece a lei de Lambert-Beer, calcular a concentração do teste através do Fator de Calibração (FC).
 $FC = CC \div \Delta C$
 $CT = FC \times \Delta T$

Exemplo

Se CC = 3,4 mg/dL (Concentração de BT na tabela do Calibrador)
 Se ABC = 0,022 e AC = 0,134
 $\Delta C = (AC - ABC) = 0,134 - 0,022 = 0,112$
 Se ABT = 0,013 e AT = 0,110
 $\Delta T = (AT - ABT) = 0,110 - 0,013 = 0,097$
 $FC = CC \div \Delta C = 3,4 \div 0,112 = 30,3$
 $CT (BD \text{ mg/dL}) = FC \times \Delta T = 30,3 \times 0,097 = 2,94 \text{ mg/dL}$

Bilirrubina Indireta - BI

BI = BT - BD = 2,94 - 1,35 = 1,59 mg/dL

Fator de Conversão Unidades (mg/dL para mmol/L)

mmol/L de bilirrubina = mg/dL x 17,1

VALORES DE REFERÊNCIA

1. Adultos, adolescentes e crianças

Bilirrubina Total: até 1,2 mg/dL

Bilirrubina Direta: até 0,4 mg/dL

2. Recém-nascidos - Bilirrubina Direta: até 0,4 mg/dL

3. Recém-nascidos - Bilirrubina Total

1 dia: até 5,1 mg/dL

1 a 2 dias: até 7,2 mg/dL

3 a 5 dias: até 10,3 mg/dL

Estes valores devem ser usados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

AUTOMAÇÃO

Este kit pode ser utilizado na maioria dos analisadores automáticos.
 O consumidor poderá solicitar mais informações através do Setor de Apoio ao Cliente (SAC) ou acessando o site www.goldanalisa.com.br

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

Para controle e verificação do desempenho do kit usar Soro Controle N e Soro Controle P da Gold Analisa.

É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO⁹

Linearidade

A reação é linear até 30,0 mg/dL para bilirrubina total e até 12,0 para bilirrubina direta. Para valores maiores diluir a amostra com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova determinação e multiplicar o resultado pelo fator de diluição empregado.

Repetitividade para Bilirrubina Total

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,0 e 0,5%.

Reprodutibilidade para Bilirrubina Total

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,9 e 0,7%.

Repetitividade para Bilirrubina Direta

A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 20 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,8 e 0,3%.

Reprodutibilidade para Bilirrubina Direta

A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações utilizando duas amostras de soro com concentrações diferentes.

As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 2,9 e 1,0%.

OBSERVAÇÕES

1. A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos.

2. Na limpeza da vidraria pode-se empregar um detergente neutro ou uma solução ácida. A última lavagem deve ser feita com água destilada ou deionizada.

3. A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sims FH, Horn C. Am J Clin Path. 1958;29:412.
2. Martineck RG Clin Chim Acta 1966;13:161.
3. Pearlman FC and Lee RTY. Clin Chem 1974; 20:447-453.
4. Poon R, Hinner IG. Clin Chem 1985; 31:92-94.
5. Ran RN, di Pasqua A. Clin Chem 1962;06:570-8:
6. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Ranges. 5a. edição, Washington: AACCPress, 2005: 42-43.
7. Winsten S, Cehelyk B. Clin Chim Acta 1969; 25:441-446.
8. GOLD ANALISA: Informe Técnico do Produto.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230104

Farm. Resp. José Gilmar Pereira Berto - CRF-MG 13421

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020





Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 01/21