

Bioclin

BILIRRUBINA K005

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Método para determinação da bilirrubina direta e total. Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Sims - Horn.

A bilirrubina, através da reação de acoplamento com o ácido sulfanílico diazotado forma um complexo de coloração vermelha (azobilirrubina). A bilirrubina total (direta e indireta) é dosada em presença de um acelerador (cafeína e benzoato), que permite a solubilização da bilirrubina indireta (não conjugada), insolúvel em água. A bilirrubina direta (conjugada) é dosada em meio aquoso.

REAGENTES

Número 1 - Nitrito de sódio - conservar entre 15 e 30°C. Contém: nitrito de sódio 70 mmol/L.

Número 2 - Reagente sulfanílico - conservar entre 15 e 30°C. Contém: ácido sulfanílico 6 mmol/L, ácido clorídrico 130 mmol/L.

Número 3 - Acelerador - conservar entre 15 e 30°C. Contém: cafeína 0,2 mmol/L, benzoato de sódio 0,4 mol/L, acetato de sódio 0,7 mol/L.

APRESENTAÇÃO

Reagentes	Volume
Reagente Nº 1	5 mL
Reagente Nº 2	125 mL
Reagente Nº 3	250 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, kit Bilirrubina Calibração Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento e transporte deverá ser de 15 a 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos;
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes;

4 - Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados;

5 - A calibração deve ser repetida periodicamente para verificar alguma alteração na resposta do colorímetro ou do espectrofotômetro;

6 - Hemólise, mesmo discreta, interfere na dosagem;

7 - Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

8 - Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

AMOSTRAS

Soro livre de hemólise. O analito é estável 03 dias quando a amostra armazenada entre 2 e 8 °C e protegida da luz. A amostra para controle terapêutico deve ser colhida sempre no mesmo horário.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO PREPARO DO DIAZO REAGENTE

Adicionar 1 gota do reagente Nº 1 a 1,5 mL do reagente Nº 2. Homogeneizar bem e usar somente no dia do seu preparo.

TÉCNICA

1 - TÉCNICA MACRO

Rotular 3 tubos de ensaio como "B" (branco), "BD" (bilirrubina direta) e "BT" (bilirrubina total), e proceder como a seguir:

	Branco	BD	BT
Reagente Nº 2	500µL	---	---
Diazo reagente	---	500µL	500µL
Água destilada	4,5 mL	4,5 mL	---
Reagente Nº3	---	---	4,5 mL
Amostra	300µL	300µL	300µL

Homogeneizar por agitação, esperar 5 minutos e ler as absorbâncias das bilirrubinas direta e total em 525 nm (500 - 540), ajustando o zero com o branco. A cor permanece estável por 30 minutos.

Os valores em mg/dL para as bilirrubinas direta e total são obtidos utilizando o Fator de Calibração MACRO, obtido com o Kit Bilirrubina Calibração **Bioclin**.

2 - TÉCNICA MICRO

Utilizada para dosagem de bilirrubina com concentração superior a 10 mg/dL (soro de recém-nascidos ictericos).

Usar micropipeta de 0,05 mL para pipetar o soro.

Rotular 3 tubos de ensaio como na Técnica Macro e proceder como a seguir:

	Branco	BD	BT
Reagente Nº2	150µL	---	---
Diazo reagente	---	150µL	150µL
Água destilada	1,8 mL	1,8 mL	---
Reagente Nº3	---	---	1,8 mL
Amostra	50µL	50µL	50µL

Homogeneizar por agitação, esperar por 5 minutos e ler as respectivas absorbâncias das bilirrubinas direta e total em 525 nm (500 - 540), ajustando o zero com o branco. A cor é estável por 30 minutos.

Os valores em mg/dL para as bilirrubinas direta e total são obtidos utilizando o Fator de Calibração MICRO, obtido com o Kit Bilirrubina Calibração **Bioclin**.

DESCRIÇÃO DOS CÁLCULOS

Utilizando o kit Bilirrubina Calibração Bioclin, efetuar o cálculo do fator. Realizar cálculos distintos para a técnica Macro e para a técnica Micro.

Fator de calibração = $\frac{\text{Concentração do padrão (10 mg/dL)}}{\text{Absorbância do padrão (média)}}$

mg/dL = Absorbância da amostra x Fator de calibração

Bilirrubina indireta = Bilirrubina total – Bilirrubina direta.

Exemplo:

Absorbância média do padrão = 0,480

Absorbância da amostra p/ bilirrubina total = 0,045

Absorbância da amostra p/ bilirrubina direta = 0,012

Fator de Calibração = $\frac{10 \text{ mg/dL}}{0,480} = 20,83$

Bilirrubina total mg/dL = 0,045 x 20,83 = 0,93

Bilirrubina direta mg/dL = 0,012 x 20,83 = 0,25

Bilirrubina indireta = 0,93 - 0,25 = 0,68

A reação é linear até 15 mg/dL na técnica Macro e 45 mg/dL na técnica Micro. Para valores maiores, diluir a amostra com NaCl 0,85 % e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado pelo fator de diluição.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Não utilizar a técnica Micro para valores de bilirrubina inferiores a 10 mg/dL. Algumas drogas como esteróides anabolizantes, ácido ascórbico, salicilatos e vitamina A podem elevar os valores de bilirrubina. A cafeína e as penicilinas podem interferir nas dosagens, diminuindo os valores de bilirrubina.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

Deve ser prática rotineira do Laboratório Clínico o uso de soro controle para checar a precisão e exatidão das dosagens. Deve ser de 5% o erro máximo permitido em relação aos valores pré-estabelecidos para os controles.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência, em mg/dL, para o presente método, foram obtidos através da determinação de bilirrubina em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Adulto	
Total	0,1 a 1,2 mg/dL
Direta	até a 0,4 mg/dL
Indireta	0,1 a 0,8 mg/dL

Neonatos	
24 hs	<8,8 mg/dL
2º dia	1,3 a 11,3 mg/dL
3º dia	0,7 a 12,7 mg/dL
4º ao 6º dia	10,1 a 12,6 mg/dL
Crianças > 1 mês	0,2 a 1,0 mg/dL

Para converter os valores de mg/dL para mmol/L (SI) multiplicar por 0,0171.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

DESEMPENHO DO PRODUTO

Exatidão

RECUPERAÇÃO

A análise de recuperação foi feita com 05 determinações de amostras. As exatidões foram calculadas, e se encontraram em boa concordância com os valores de referência, obtendo uma recuperação entre 95 e 103%.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O kit de bilirrubina foi comparado com outros métodos para dosagem de bilirrubina total e direta. De acordo com os resultados de 07 amostras clínicas, os métodos mostraram uma excelente correlação.

O coeficiente de correlação para bilirrubina total foi de 0,9998 e a equação da reta foi $Y = 0,9998X + 1,0224$. O coeficiente de correlação para bilirrubina direta foi de 0,9994 e a equação da reta foi $Y = 0,9994X + 1,0197$.

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade refere-se a 20 determinações sucessivas de bilirrubina total e direta, utilizando-se 3 amostras com concentrações diferentes. Foram encontrados os seguintes resultados:

BILIRRUBINA DIRETA			
Número	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,6525	0,8395	0,8675
Desvio Padrão (mg/dL)	0,0097	0,0196	0,0326
Coefficiente de Variação (%)	1,4813	2,3341	3,7563

BILIRRUBINA TOTAL			
Número	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,7425	0,8765	0,8100
Desvio Padrão (mg/dL)	0,0202	0,0114	0,0236
Coefficiente de Variação (%)	2,7244	1,2969	2,9160

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade refere-se 20 determinações de bilirrubina total e direta, em 3 dias diferentes, com 3 amostras de concentrações diferentes. Foram encontrados os seguintes resultados:

BILIRRUBINA DIRETA			
Número	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,6543	0,8415	0,8613
Desvio Padrão (mg/dL)	0,0032	0,0290	0,0297
Coefficiente de Variação (%)	0,4853	3,4524	3,4520

BILIRRUBINA TOTAL			
Número	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,7292	0,8482	0,7898
Desvio Padrão (mg/dL)	0,0116	0,0253	0,0225
Coefficiente de Variação (%)	1,5895	2,9782	2,8539

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra de concentração 0 (zero) de bilirrubina total e direta.

A média da concentração de bilirrubina total foi 0,3600 mg/dL, com desvio padrão de 0,02542 mg/dL. A sensibilidade, que indica o Limite de Detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,11227 mg/dL.

A média da concentração de bilirrubina direta foi 0,0330 mg/dL, com desvio padrão de 0,0047 mg/dL. A sensibilidade, que indica o Limite de Detecção do Método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, sendo igual a 0,0471 mg/dL.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A bilirrubina eleva-se no soro na presença de lesões hepáticas, obstrução biliar ou quando a velocidade de destruição dos glóbulos vermelhos está aumentada. O aumento da bilirrubina indireta é observado na síndrome hemolítica, na icterícia neonatal, na síndrome de Cligler-Najjar e na doença de Gilbert.

A bilirrubina direta está aumentada nas hepatites agudas e crônicas, nas reações tóxicas a várias drogas (clorpromazina, arsenicais orgânicos, metiltestosterona) e nas obstruções do trato biliar.

INTERFERENTES

Amostras com hemólise mesmo que discreta interferem na dosagem de Bilirrubina.

NÚMERO DE TESTES

110 Testes/300 μ L de amostra

276 Testes/50 μ L de amostra

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - JENDRASSIK, H. T. e Grof, P. : Biochem. Zentr. 297:81, 1938.
- 2 - MALLOY, H. T. e EVELYN, K. A. - J. Biol. Chem. 119:481, 1937.
- 3 - MARTINEK, R. G., Clin. Chem. Acta 13, 161, 1966.
- 4 - POWELL, W. N., Am. J. Clin. Path. 8, 55, 1944.
- 5 - SIMS, F. H. e Horn, C., Am. J. Clin. Path. 29, 412, 1958.
- 6 - TONKS, D. B., Clin. Chem. 9, 217, 1983.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegura

rada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

DADOS DO FABRICANTE

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax (31) 3439.5455
e-mail bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR


Serviço de Assessoria ao Cliente Tel.: 0800 0315454.

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Bilirrubina na ANVISA: 10269360083.

Revisão: Dezembro/11

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES		INFLÂMVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO