

Método

Colorimétrico bireagente – Dicloroanilina.

Finalidade

Sistema para a determinação quantitativa da bilirrubina direta no soro ou plasma por reação de ponto final.

Somente para uso diagnóstico in vitro.

Princípio

A reação de acoplamento da Bilirrubina Direta, com a 2,4 Dicloroanilina diazotada, forma um azocomposto de coloração vermelha. A intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração de Bilirrubina Direta na amostra.

Significado Clínico

O produto de quebra da hemoglobina no sistema retículo-endotelial é a bilirrubina, que é conjugada no fígado e excretada na bile. A dosagem de bilirrubina é útil para o diagnóstico de doenças hepatobiliares e obstrução da árvore biliar (colestase). A bilirrubina direta eleva-se no plasma em presença de doenças hepáticas hereditárias, como as doenças de Dubin-Johnson e Rotor, lesão de hepatócitos (viral, tóxica ou alcoólica), hepatites agudas ou crônicas e reações tóxicas. Níveis de bilirrubina direta superiores a 50% da concentração de bilirrubina total indicam a existência de causas pós-hepáticas. Dependendo do distúrbio, a bilirrubina indireta (não conjugada), a bilirrubina direta (conjugada) ou ambas bilirrubinas totais, são as principais contribuintes da hiperbilirrubinemia. A obstrução extra-hepática da árvore biliar devido a carcinoma ou fibrose do pâncreas, carcinoma ou contrações do canal biliar e coledocolitíase, levam a concentrações séricas elevadas da bilirrubina direta.

Reagentes

Reagente nº 1 - Tampão - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Sulfâmico >60 mmol/L, Azida Sódica 0,5 g/dL.

Reagente nº 2 - Reagente de Cor - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: 2,4 Diclorofenil-Sal de Diazônio 1 mmol/L, HCl 135 mmol/L, Azida Sódica 0,5 g/dL.

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não exceda 30°C, até um limite de 120 horas. **Não congelar.**

Cuidados Especiais e Precauções

- Manter o Reagente de Cor (2) ao abrigo da luz.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Tampão (1) e o Reagente de Cor (2) contêm azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

Para a realização da técnica é necessário equipamento bioquímico automático.

Amostra

Soro ou plasma (Heparina/EDTA). O analito é estável por 4 dias armazenada entre 2 e 8°C e 3 meses a 20°C negativos, quando livres de contaminação e protegidos da luz.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem ser seguidas as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

As bilirrubinas são oxidadas por ação da luz, portanto as amostras de sangue devem ser protegidas da exposição direta à luz artificial ou solar. Amostras hemolisadas produzem valores falsamente diminuídos na determinação da bilirrubina direta. Resultados de triglicérides até 617 mg/dL não apresenta interferência significativa. Presença de hemoglobina

mesmo que discreta e ácido ascórbico produzem interferências significativas nas amostras.

Preparação dos Reagentes

Os reagentes estão prontos para uso.

Nota: Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118. *Devido a Bilirrubina ser um composto extremamente fotossensível, recomendamos ainda, o uso de Calibrador e Controles recém reconstituídos e que não tenham sido expostos a luz, evitando assim baixa nos resultados.*

Procedimento Técnico

O Kit de Bilirrubina Direta – Ref. BA037 é indicado para uso em analisadores bioquímicos automáticos. Verificar o protocolo de automação no site www.bioanalitica.com.br ou através do SAC.

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = 0,0049 + 0,897 * Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,993.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo Bilirrubina Direta, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,0050 mg/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0007 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 0,0072 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 12 mg/dL. Para amostras com valores acima de 12 mg/dL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 150 mmol/L (0,85%), repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,11	0,13	4,18
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,01	0,05
Coeficiente de Variação (%)	5,97	8,72	1,26

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	0,11	0,26	4,18
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,01	0,06
Coeficiente de Variação (%)	7,20	2,69	1,39

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Adultos, Crianças e Adolescentes

Bilirrubina Total: até 1,2 mg/dL

Bilirrubina Direta: até 0,4 mg/dL

Recém-Nascidos

Bilirrubina Direta: até 0,4 mg/dL

Bilirrubina Total: até 1,2 mg/dL

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

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megahoms/ cm ou condutividade < 1 microsiemens /cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens. No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

- 1 - Rand RN, di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin Chem 1962; 6:570-8.
- 2 - Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ash-wood ER, editors, Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1125-77.
- 3 - Poon R; Hinberg IH. Clin Chem. 1985, 31:92-94.
- 4 - Pearlman FC and Lee RTY. Clin Chim 1974; 20:447-453.
- 5 - Winsten S, Cehelyk B. Clin Chim Acta 1969;25:441-446.
- 6 - Martineck RG Clin Chim Acta 1966; 13:161.
- 7 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentação

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA037-50	50 mL	1 x 40 mL	1 x 10 mL
BA037-100	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União
CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil
Tel. +55 31 3657-0051
www.bioanalitica.com.br
E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br
CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira
SAC: 0800 006 8111
E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.