



BILIRRUBINA DIRETA

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Teste colorimétrico baseado na reação de Malloy-Evelyn.

FINALIDADE:

Kit para a determinação quantitativa da Bilirrubina Direta em soro. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

Em presença de ácido sulfanílico diazotado, a bilirrubina reage formando azobilirrubina que apresenta coloração vermelha. A bilirrubina direta é doseada em meio aquoso. A bilirrubina total (direta + indireta) é doseada com o auxílio de um agente solubilizante.

A intensidade da coloração do complexo formado está diretamente relacionada à concentração da bilirrubina direta na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

A degradação do heme da hemoglobina leva a formação da bilirrubina. A bilirrubina formada, ou bilirrubina indireta, que é insolúvel em água, é carregada pela albumina até o fígado. No fígado ela se liga ao ácido glicurônico, formando a bilirrubina conjugada ou direta. A bilirrubina conjugada é então excretada pelas vias biliares até o intestino. No intestino a bilirrubina se transforma em estercobilinogênio por ação da flora bacteriana residente.

A bilirrubina total é a soma das frações direta e indireta. A dosagem da bilirrubina total e das suas respectivas frações é de extrema valia no diagnóstico e acompanhamento das hepatopatias, quadros hemolíticos, obstrução das vias biliares e icterícia do recém-nascido. Diversas outras condições patológicas como deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase, esferocitose, galactosemia, sífilis, toxoplasmose, citomegalia e rubéola podem causar icterícia no recém-nascido.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2 e 8°C

R1 – REAGENTE DE COR: Ácido sulfanílico 35,0 mmol/L, ácido clorídrico 180mmol/L.

R2 - NITRITO: Nitrito de sódio 33 mmol/L, azida sódica 0,095% p/v.

ESTABILIDADE:

Os reagentes individuais são estáveis até sua data de validade, mesmo após abertos se mantidos sob temperatura de 2 a 8°C. Os frascos devem ser imediatamente tampados após seu uso. Não deixar os frascos expostos ao ar por períodos maiores que o necessário.

O reagente de uso deve ser preparado imediatamente antes de seu uso e qualquer sobra de reagente deve ser descartada após a conclusão da bateria de testes. Não utilizar reagente de uso preparado pela manhã na rotina da tarde. Sempre preparar o reagente imediatamente antes de seu uso. O reagente de trabalho desenvolve uma coloração alaranjada, o que não afeta o resultado final.

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 2 e 8

°C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. O reagente R2 possui azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Recomendamos a aplicação 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;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental;
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto;
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Cronômetro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

• SORO

A amostra deve ser protegida da luz imediatamente após a coleta. A Bilirrubina é estável por até 8 horas se a amostra for armazenada entre 10 e 30 °C, 12 horas se armazenada entre 2 e 8 °C ou 24 horas em temperaturas abaixo de 0 °C.

INTERFERÊNCIAS

Deve-se evitar o uso de amostras hemolisadas, pois a hemoglobina pode causar resultados falsamente diminuídos. Triglicérides com níveis maiores que 150 mg/dL causam interferência nas leituras. Todos os anticoagulantes interferem na dosagem.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações

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

2.Preparo do reagente

Misturar na proporção de 30 partes do R1 – Reagente de Cor para 1 parte do R2 – NITRITO. Homogeneizar suavemente. O reagente de trabalho é estável por até 4 horas. A coloração laranja apresentada por ele não interfere nos resultados.

3.Leitura do teste

Comprimento de onda: 550nm (530 – 570);

Cubeta: 1cm;

Temperatura: 10 a 30°C;

Medição: Medir as absorbâncias do Calibrador, Branco do Calibrador, Amostra e Branco da Amostra zerando o fotômetro com o branco do reagente.

4. Procedimento Monoreagente

Pipetar na cubeta	Branco do Reagente	Branco da Amostra	Amostra/ Calibrador
R1 – Reagente de Cor	1,0mL	1,0mL	-
Reagente de Trabalho	-	-	1,0mL
Amostra/Calibrador	-	50µL	50µL

Homogeneizar bem, e aguardar 5 minutos. Ler as absorbâncias do Calibrador, Branco do Calibrador, Amostra e Branco da Amostra zerando o fotômetro com o branco do reagente. A cor é estável por 30 minutos.

5. Procedimento Bireagente

Pipetar na cubeta	Branco do Reagente	Branco da Amostra	Amostra/ Calibrador
R1 – Reagente de Cor	1,0mL	1,0mL	1,0mL
R2 - Nitrito	-	-	30µL
Amostra/Calibrador	-	50µL	50µL

Homogeneizar bem, e aguardar 5 minutos. Ler as absorbâncias do Calibrador, Branco do Calibrador, Amostra e Branco da Amostra zerando o fotômetro com o branco do reagente. A cor é estável por 30 minutos.

5. Cálculos:

5.1 Exemplo com calibrador

$$\text{Bili. (mg/dL)} = \frac{\text{Abs. Amostra} - \text{Abs. Branco Amostra}}{\text{Abs. Cal} - \text{Abs. Branco CAL}} \times \text{Conc. CAL (mg/dL)}$$

5.1 Exemplo

Concentração do Calibrador: 0,35mg/dL

Absorbância da Amostra: 0,016

Absorbância Branco da Amostra: 0,003

Absorbância do Calibrador: 0,022

Absorbância Branco do Calibrador: 0,002

$$\text{Bilirrubina (mg/dL)} = \frac{(0,016 - 0,003)}{(0,022 - 0,002)} \times 0,35$$

Bilirrubina (mg/dL) = 0,22 mg/dL

5.2.Exemplo com Fator de Calibração

$$\text{FC} = \frac{\text{Concentração do calibrador (mg/dL)}}{\text{Abs. Cal} - \text{Abs. Branco Cal}}$$

Abs. Cal – Abs. Branco Cal

$$\text{Bilirrubina (mg/dL)} = \text{Abs. Amostra} - \text{Abs. Branco Amostra} \times \text{FC}$$

5.2.1 Exemplo

$$\text{Fc} = 0,35 / (0,022 - 0,002)$$

$$\text{Fc} = 17,5$$

$$\text{Bilirrubina (mg/dL)} = (0,016 - 0,003) \times 17,5 = 0,22 \text{ mg/dL}$$

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação:

A linearidade do método é de até 15mg/dL. Para amostras com concentrações mais elevadas, diluir as amostras com 1 + 1 com solução salina a 0,9% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado por 2.

2. Valores de referência

Amostra	Valor (mg/dL)	µmol/L
Bilirrubina Direta	≤ 0,25	≤ 4,3
Bilirrubina Total	≤ 1,1	≤ 18,8

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

3. Sensibilidade

0,10 mg/dL

4. Comparação entre métodos

O kit para a dosagem de Bilirrubina Direta foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes, dentre essas, soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

5. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Bilirrubina Direta da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e

comparadas com os valores alvo.

5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	30	0,84	0,035	4,17
SC2	30	1,57	0,043	2,74
SC3	30	8,17	0,124	1,52

5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	10	0,85	0,039	4,59
SC2	10	1,59	0,051	3,21
SC3	10	8,14	0,195	2,40

6. Controle de qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Bilirrubina Direta da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	0,86	0,84	97,7%
SC2	1,58	1,57	100,6%
SC3	8,16	8,15	99,9%

Todo soro controle com valores determinados para Bilirrubina Direta, pelo método de Malloy-Evelyn, pode ser utilizado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/150-100	R1-REAGENTE DE COR	1 x 100mL	100
	R2-NITRITO	1 x 5mL	
100/150-1000	R1-REAGENTE DE COR	2 x 250mL	1000
	R2-NITRITO	1 x 50mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- HUMANS VAN DEN BERGH, A. A.: MULLER, P. Ueberindirecte und eineindirectezoreaction auf bilirubin. Biochem. Z. v.77, p.90-103, 1916.
- 2- BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. Tietz textbook of clinical chemistry, 4 ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1994. 836p.
- 3-GUYTON, A.C. HALL, J.E. Fisiol. humana e mecanismos das doenc. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998. 580p.
- 4- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 5- WESTGARD, J.O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chem. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981
- 6- TIETZ, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd. Edtion (1987), 676-679, W.B. Saunders Company Philadelphia.
- 7- MALLEY H. T.; EVELYN K. A. Determination of bilirubin with photoelectric colorimeter. J. Biol. Chem. V. 119, p. 481-490, 1937.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das

especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.

Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

CNPJ: 11.308.834/0001-85















Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br

Departamento de Serviços Associados | (31)34663351; dsa@vidabiotecnologia.com.br

Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D

Reg. M.S.: 80785070027

Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Código do Produto
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote