



## INSTRUÇÕES DE USO (Versão Dez/24)

# BILIRRUBINA TOTAL

Colorimétrico – DCA

### FINALIDADE

O conjunto é um sistema que se destina à determinação quantitativa da bilirrubina total no soro humano baseado por formação e azobilirrubina com diclorofenil diazônio. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

### PRINCÍPIO DE AÇÃO

O diclorofenil diazônio reage com a bilirrubina total formando um azocomposto, de coloração avermelhada, com máximo de absorção em 546 nm. A concentração de bilirrubina é diretamente proporcional à intensidade da cor formada.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A bilirrubina é produzida durante a degradação normal ou patológica de eritrócitos no sistema retículo-endotelial. O produto desta reação é a bilirrubina indireta (não conjugada) que é encaminhada ao fígado e convertida em bilirrubina direta (conjugada). Algumas doenças adquiridas ou hereditárias, além do uso de certos medicamentos podem comprometer o mecanismo de metabolização e excreção da bilirrubina, levando à icterícia, caracterizada pelo aumento de sua concentração sérica. As determinações de bilirrubina são utilizadas no diagnóstico de doenças hepáticas, na detecção de anemia hemolítica e na avaliação do grau de gravidade da icterícia.

### REAGENTES

- Tampão:** Contém 2-fenoxietanol < 1mmol/L e surfactante. Conservar entre 2-8°C. **Atenção: Reagente Corrosivo**
- Reagente de Cor:** Contém diclorofenil diazônio < 10 mmol/L e ácido clorídrico 30mmol/L. Conservar entre 2-8°C.
- Calibrador:** Contém bilirrubina em matriz liofilizada. A concentração do calibrador varia lote a lote.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Espectrofotômetro  
Centrífuga  
Cronômetro  
Vidraria  
Pipetas manuais ou automáticas  
Água destilada ou deionizada

### CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem.

Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Antes da manipulação, todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C, podendo ser transportados na temperatura de 2-25°C, até um limite de 48 horas.

### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
- O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, serem calibrados corretamente e receberem manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
- Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Usar ponteiras descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
- Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
- As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgotos.
- Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.
- Evitar exposição dos reagentes ao calor, luz solar ou luz forte direta, durante armazenagem ou uso.

### AMOSTRA

#### Soro e Plasma (EDTA)

A bilirrubina é um composto extremamente fotossensível. A sua determinação deve ser feita, portanto, imediatamente após a coleta do sangue. Se isto não for possível, separar o soro, envolver o frasco com papel aluminizado e manter refrigerado (2-8°C) até o momento da dosagem, que deve ser realizada no mesmo dia.

### PROCEDIMENTO

#### Preparo do calibrador

Adicionar exatamente 1,00 mL de água deionizada ao frasco do R3 – Calibrador. Homogeneizar suavemente, com movimentos circulares, e aguardar 10 minutos até completa dissolução. Os demais reagentes já são prontos para uso.

Pipetar em tubos de ensaio:

	Branco	Calibrador	Teste
R1 - Tampão	0,8 mL	0,8 mL	0,8 mL
Amostra	---	---	0,025 mL
R3 - Calibrador	---	0,025 mL	---
Água deionizada	0,025 mL	---	---

Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37 °C por 5 minutos. Determinar somente as absorbâncias do teste e do calibrador em 546 nm (530 – 550nm), acertando o zero com água deionizada. Essa será a Absorbância 1 (A<sub>1</sub>).

	Branco	Calibrador	Teste
R2 – Reagente de Cor	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL

Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37 °C por 5 minutos. Determinar somente as absorbâncias do teste e do calibrador em 546 nm (530 – 550nm), acertando o zero com o branco. Essa será a Absorbância 2 (A<sub>2</sub>).

### CÁLCULOS

Os cálculos abaixo se referem à bilirrubina total. A bilirrubina indireta é calculada pela diferença da total menos a direta.

**Corrigir o valor de A<sub>1</sub> do Teste e do Calibrador pelo fator de diluição 0.81.**

Teste:  $A_1 \times 0,81 = A_{1\text{corrigida}}$

Calibrador:  $A_1 \times 0,81 = A_{1\text{corrigida}}$

**A absorbância final é obtida através da subtração do valor de A<sub>2</sub> por A<sub>1</sub> corrigida**

Bilirrubina(mg/dL) =  $\frac{\text{Abs Teste } (A_2 - A_{1\text{corrigida}}) \times \text{Conc. Cal (mg/dL)}}{\text{Abs Calibrador } (A_2 - A_{1\text{corrigida}})}$

Exemplo:

Amostra:

A<sub>1</sub>: 0,108

A<sub>2</sub>: 0,164

A<sub>1</sub> corrigida:  $0,108 \times 0,81 = 0,088$

Absorbância do Teste:  $0,164 - 0,088 = 0,076$

Calibrador

Concentração: 5,16 mg/dL

A<sub>1</sub>: 0,144

A<sub>2</sub>: 0,374

A<sub>1</sub> corrigida:  $0,144 \times 0,81 = 0,117$

Absorbância do Calibrador:  $0,374 - 0,117 = 0,257$

Bilirrubina (mg/dL) =  $\frac{0,076}{0,257} \times 5,16 = 1,53$  mg/dL

### Cálculo com Fator

Fator =  $\frac{\text{Conc. Calibrador}}{\text{Absorbância do Calibrador}}$

Bilirrubina Total (mg/dL) = Absorbância do Teste x Fator

Exemplo:

Fator:  $\frac{5,16}{0,257} = 20,077$

Bilirrubina Total (mg/dL) =  $0,076 \times 20,077 = 1,53$  mg/dL

### VALORES DE REFERÊNCIA

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de referência na sua população atendida. Os valores abaixo são fornecidos como orientação.

	RN Prematuros (mg/dL)	RN a termo (mg/dL)
<b>1 dia</b>	<8,0	1,4 – 8,7
<b>1-2 dias</b>	<12,0	3,4 – 11,5
<b>3-5 dias</b>	<16,0	1,5 – 12,0

**Crianças, adolescentes e adultos:** Até 1,2 mg/dL  
 Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI):  $\mu\text{mol/L}$   
 Bilirrubina (mg/dL) x 17,1 = Bilirrubina ( $\mu\text{mol/L}$ )

#### LINEARIDADE

A reação é linear até 20 mg/dL.

#### DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

**Sensibilidade:** 98%

**Exatidão:** A comparação com método similar validado demonstrou um coeficiente de correlação,  $r$ , igual a 0,994 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi  $y = 0,9238x - 0,043$ , demonstrando uma exatidão de 99%.

#### Precisão

**Repetibilidade:** A imprecisão intraensaio foi verificada através da análise de 20 replicatas em três níveis, sendo que os valores da imprecisão de cada nível foram obtidos em corrida única no mesmo dia, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetitividade (imprecisão intraensaio)				
	n	Média	DP	CV(%)
<b>Nível 1</b>	20	1,19	0,021	1,7
<b>Nível 2</b>	20	4,64	0,038	0,8
<b>Nível 3</b>	20	10,6	0,100	0,9

**Reprodutibilidade:** A imprecisão interensaio foi verificada através da análise de 20 replicatas em três níveis realizada em outro dia, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade (imprecisão interensaio)				
	n	Média	DP	CV(%)
<b>Nível 1</b>	20	1,18	0,024	2
<b>Nível 2</b>	20	4,64	0,03	0,6
<b>Nível 3</b>	20	10,8	0,1	0,5

**Sensibilidade analítica:** 0,075 mg/dL

#### AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis quando solicitadas.

#### CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

#### INTERFERENTES

Concentrações de hemoglobina até 750 mg/dL e triglicérides até 1000 mg/dL não produzem interferências significativas.

Para outros interferentes consulte literatura pertinente.

O anticoagulante EDTA não interfere na dosagem de Bilirrubina, entretanto, os anticoagulantes Heparina e Fluoreto não devem ser utilizados. Uma lista de drogas e outras substâncias interferentes com bilirrubina foi descrita por Motta<sup>5</sup>.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.Sims,F.H., Horn,C. Am. J. Clin. Path. 29:412,1958
- 2.Malloy,H.T., Evelyn,K.A. J. Biol. Chem. 119:481,1937
- 3.Botwell, J.H. Clin. Chem. 10(3):197,1964
- 4.Fevry, j. et. al. Clin. Chim. Acta 17(1):63,1963
- 5.Motta, V.T. Bioq. Clin. Para Laboratório - Ed. Med. Missau:2003.
- 6.Katal: Dados de arquivo

#### APRESENTAÇÃO

Reagentes	Volume
1. Tampão	1 x 80 mL
2. Reagente de Cor	1 x 24 mL
3. Calibrador	1 x 1 mL

#### CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

1. A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso.

#### ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

**(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407**

**e-mail: [sac@katal.com.br](mailto:sac@katal.com.br)**



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG – Brasil – CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga – CRBio 076936/04-D

ANVISA.:10377390234

**Data da última revisão: 05/12/2024**

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS "IN VITRO"	
	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
	Fabricado por
	Número de Lote