



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Mai/25)

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

1. Tampão: Contém 2-fenoxietanol < 1mmol/L e surfactante. Conservar entre 2-8°C.

2. Reagente de Cor: Contém diclorofenil diazônio < 10 mmol/L e ácido clorídrico 30mmol/L. Conservar entre 2-8°C.

Os reagentes estão prontos para o uso.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

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

1. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

2. Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.

3. 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.

4. Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.

5. Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.

6. Usar pipetas de vidro e ponteiros 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.

7. Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.

8. Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

9. 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.

10. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

AMOSTRA

Soro

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 (PARA ANALISADORES MANUAL OU SEMIAUTOMATIZADOS)

Preparo dos reagentes

Pipetar em tubos de ensaio:

| | Branco | Calibrador | Teste |
|-----------------|---------|------------|---------|
| R1 - Tampão | 0,8 mL | 0,8 mL | 0,8 mL |
| Amostra | --- | --- | 0,05 mL |
| R3 - Calibrador | --- | 0,05 mL | --- |
| Água deionizada | 0,05 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 (A₁).

| | 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 (A₂).

Nota: Para teste em amostra pediátrica com bilirrubina acima de 3,0 mg/dL, avaliar amostra após diluição 1:1 com salina e multiplicar o resultado por 2.

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 A₁ 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 A₂ por A₁ corrigida

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

Exemplo:

Amostra:

A₁: 0,108

A₂: 0,164

A₁ corrigida: $0,108 \times 0,81 = 0,088$

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

Calibrador

Concentração: 5,16 mg/dL

A₁: 0,144

A₂: 0,374

A₁ corrigida: $0,144 \times 0,81 = 0,117$

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

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

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) = $0,076 \times 20,077 = 1,53 \text{ mg/dL}$

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) |
|----------|-----------------------|--------------------|
| 1 dia | <8,0 | 1,4 – 8,7 |
| 1–2 dias | <12,0 | 3,4 – 11,5 |
| 3–5 dias | <16,0 | 1,5 – 12,0 |

Crianças, adolescentes e adultos: 1,2 mg/dL

Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): µmol/L

Bilirrubina (mg/dL) x 17,1 = Bilirrubina (µmol/L)

LINEARIDADE

A reação é linear até 30 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 0,970 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi $y=1,1195x - 0,0535$, demonstrando uma exatidão de 97%.

Sensibilidade analítica: 0,075 mg/dL

Precisão da medição:

Repetibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

| Repetibilidade | Amostra |
|------------------------------|---------|
| Média | 1,66 |
| Desvio Padrão | 0,05 |
| Coefficiente de Variação (%) | 3,2 |

Reprodutibilidade: A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valores dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

| Reprodutibilidade | Amostra |
|------------------------------|---------|
| Média | 1,64 |
| Desvio Padrão | 0,04 |
| Coefficiente de Variação (%) | 9,7 |

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

Evitar o uso de amostra hemolisada, pois a hemoglobina produz resultados falsamente diminuídos. Evitar o uso de amostras com valores de Triglicérides >150 mg/dL. Todos os anticoagulantes interferem na dosagem. Uma lista de drogas e outras substâncias interferentes com bilirrubina foi descrita por Motta⁵.

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.Fevely, 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

| Composição | Volume |
|--------------------|-----------|
| 1. Tampão | 1 x 60 mL |
| 2. Reagente de Cor | 1 x 15 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@kallab.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:10377390308

Data da última revisão:07/05/2025

| 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 |