



INSTRUÇÕES DE USO (Versão Jan/26)

BILIRRUBINA DIRETA

Colorimétrico – DCA

FINALIDADE
O conjunto é um sistema que se destina à determinação quantitativa da bilirrubina direta 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 direta 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 reticulo-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: Ácido Sulfâmico <150 mmol/L e estabilizantes. Conservar entre 2-8°C.
2. Reagente de Cor: Contém: Diclorofenil Diazônio <10 mmol/L e estabilizantes. Conservar entre 2-8°C.
Reagentes pronto 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 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
Preparo dos reagentes

Pipetar em tubos de ensaio:

	Branco	Calibrador	Teste
R1-Tampão	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Amostra	---	---	0,10 mL
R3 - Calibrador	---	0,10 mL	---
Água deionizada	0,10 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	0,25 mL	0,25 mL	0,25 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 direta. 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: A₁ x 0,81 = A_{1corrigida}

Calibrador: A₁ x 0,81 = A_{1corrigida}

A absorbância final é obtida através da subtração do valor de A₂ por A_{1corrigida}

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
A_{1corrigida}: 0,108 x 0,81 = 0,088
Absorbância do Teste: 0.164 – 0,088 = 0,076

Calibrador
Concentração: 1,29 mg/dL
A₁: 0,144
A₂: 0,374
A_{1corrigida}: 0,144 x 0,81 = 0,117
Absorbância do Calibrador: 0,374 – 0,117 = 0,257

Bilirrubina Direta (mg/dL) = $\frac{0,076}{0,257} \times 1,29 = 0,38 \text{ mg/dL}$

Cálculo com Fator

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

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

Exemplo:

Fator: $\frac{1,29}{0,257} = 5,019$

Bilirrubina Direta (mg/dL) = 0,076 x 5,019 = 0,38 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.

Recém-nascidos, Crianças, Adolescentes e adultos: Até 0,4 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 12 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 0,9907 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi $y=0,9052x + 0,0098$, demonstrando uma exatidão de 98%.

Precisão

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	0,55
Desvio Padrão	0,03
Coeficiente de Variação (%)	5,0

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	0,56
Desvio Padrão	0,01
Coeficiente de Variação (%)	4,4

Sensibilidade analítica: 0,005 mg/dL

AUTOMAÇÃO

Aplicações para analisadores automáticos estão disponíveis mediante solicitação à Assessoria Científica

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 Evitar o exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

INTERFERENTES

Concentrações de hemoglobina até 50 mg/dL e triglicérides até 150 mg/dL não produzem interferências significativas. Uma lista de drogas e outras substâncias interferentes com bilirrubina foi descrita por Motta⁶.

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.Fevery, 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 80 mL
2. Reagente de Cor	1 x 24 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 Milagres de Oliveira – CRBio-04 128481/04-D

ANVISA: 10377390301

Data da última revisão: 08/01/2026

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