

## BILIRUBIN (DIRECT)

COD 21504 4 x 60 mL + 4 x 15 mL	COD 23504 1 x 60 mL + 1 x 15 mL
Unicamente para utilização <i>in vitro</i> no laboratório clínico	



## BILIRRUBINA (DIRETA) DICLOROFENIL DIAZÓLIO

### UTILIZAÇÃO PREVISTA

Reagente para medir a concentração de bilirrubina directa no soro ou plasma humano. Os valores obtidos são úteis no diagnóstico e no controlo da evolução da icterícia. Este reagente deve ser utilizado nos analisadores BA da BioSystems ou nouro analisador de características similares.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A bilirrubina é um produto de resíduo derivado do grupo hemo da hemoglobina dos eritrócitos danificados ou senescentes, que são destruídos nas células reticuloendoteliais. Uma vez produzida, a bilirrubina é transportada ao fígado em associação com a albumina. A bilirrubina no hepatócito conjugase com o ácido glucocrónico e é excretada na biliar. Existem uma série de doenças herdadas ou adquiridas que afectam a produção, captação, metabolismo e excreção da bilirrubina, resultando numa hiperbilirrubinemia<sup>1,2</sup>.

Observa-se hiperbilirrubinemia não conjugada em recém nascidos (icterícia fisiológica), num aumento da destruição de eritrócitos (anemia hemolítica, hematoma extenso), na eritropoyesis deficiente assim como em algumas doenças genéticas pouco frequentes (síndrome de Gilbert, síndrome de Crigler-Najjar).

A hiperbilirrubinemia conjugada associa-se a uma diminuição na excreção de biliar devida a doenças hepáticas (hepatite ou cirrose) ou a uma colestase intra ou extrahepática.

A icterícia é uma manifestação clínica da hiperbilirrubinemia, que consiste numa deposição dos pigmentos biliares na pele, originando coloração amarelada na pele e mucosas.

O diagnóstico clínico não deve ser realizado considerando unicamente os resultados de um ensaio e deve incluir os dados clínicos e laboratoriais.

### FUNDAMENTO DO MÉTODO

A bilirrubina directa na amostra reage com o sal de 3,5-diclorofenildiazólio formar um complexo colorido que pode ser medido espectrofotometricamente a 535 nm<sup>3</sup>. A cetrimida solubiliza a bilirrubina indireta permitindo a sua reacção juntamente a fracção directa<sup>4,5</sup>. Os termos "directa" e "total" referem-se às características da reacção na presença ou ausência de solubilizantes (aceleradores). A bilirrubina "directa" e "indirecta" equivalem de forma aproximada às fracções conjugadas e não conjugadas.

### ÍNDICE

	COD 21504	COD 23504
A. Reagente	4 x 60 mL	1 x 60 mL
B. Reagente	4 x 15 mL	1 x 15 mL

### COMPOSIÇÃO

A. Reagente: Ácido fosfórico 90 mmol/L, HEDTA 4,5 mmol/L, cloreto de sódio 50 mmol/L, pH 1,5.

**PERIGO: H314: Provoca queimaduras graves na pele e lesões oculares graves. P260: Não respirar o pó/ o fumo/ o gás/ a névoa/ os vapores/ o aerossol. P280: Usar luvas/ vestuário/ óculos/ máscara de proteção. P303+P361+P353: EM CASO DE CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Remover imediatamente o vestuário contaminado. Enxaguar a pele com água ou tomar banho. P305+P351+P338: EM CASO DE CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Tirar as lentes de contacto, se as usa e for fácil removê-las. Continuar a enxaguar.**

B. Reagente: 3,5-diclorofenildiazólio 1,5 mmol/L.

**PERIGO: H314: Provoca queimaduras graves na pele e lesões oculares graves. P260: Não respirar o pó/ o fumo/ o gás/ a névoa/ os vapores/ o aerossol. P280: Usar luvas/ vestuário/ óculos/ máscara de proteção. P303+P361+P353: EM CASO DE CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Remover imediatamente as peças de vestuário contaminadas. Enxaguar a pele com água ou tomar banho. P305+P351+P338: EM CASO DE CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Tirar as lentes de contacto, se as usa e for fácil removê-las. Continuar a enxaguar.**

Para mais advertências e precauções, ver a ficha de dados de segurança do produto (SDS).

### ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Armazenar a 2 °C a 8 °C.

Depois de abertos, os componentes são estáveis até à data de validade indicada no rótulo, se forem guardados perfeitamente fechados e for evitada a contaminação durante a utilização.

Sobre a estabilidade na tabela: Os reagentes abertos e conservados no compartimento refrigerado do analisador são estáveis durante 2 meses.

Sinais de degradação: Absorvância do espaço sobre o limite indicado em "Parâmetros de ensaio".

### MATERIAIS ADICIONAIS NECESSÁRIOS (NÃO FORNECIDOS)

Calibrador de Bioquímica (BioSystems cód. 18011) ou Calibrador de Bioquímica Humano (BioSystems cód. 18044).

### PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Os reagentes estão prontos para utilização

### AMOSTRAS

Soro e plasma recolhidos mediante procedimentos standard. A heparina ou EDTA deverá ser usado como anticoagulante.

A bilirrubina no soro e plasma é estável 2 dias a 20-25°C, 7 dias a 4-8°C e 6 meses a -20°C protegido da luz<sup>6</sup>.

### CALIBRAÇÃO

Todos os dias deve ser realizado um branco de reagente e uma calibragem pelo menos a cada 2 meses, depois de uma mudança de lote de reagente ou quando os procedimentos de controlo de qualidade o exigirem.

### CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se o uso dos Soros Controlo de Bioquímica níveis I (Cod. 18005, 18009 e 18042) e II (Cod. 18007, 18010 e 18043) para verificar a exactidão do procedimento de medição.

Cada laboratório deve definir o seu próprio programa de controlo de qualidade interna e os procedimentos para as acções corretoras se os resultados de controlo não estiverem dentro dos limites aceitáveis.

### VALORES DE REFERÊNCIA

Adultos<sup>7</sup>:

Direta:	Até 0,4 mg/dL = 6,8 µmol/L
---------	----------------------------

Estes valores dão-se unicamente a título orientativo; é recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência.

### CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

As características metrológicas descritas seguidamente foram obtidas com um analisador BA400 e seguindo as diretrizes Instituto de Normas Clínicas e de Laboratório (Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI).

- Limite de detecção: 0,09 mg/dL = 1,60 µmol/L.
- Limite de linearidade: 15 mg/dL = 257 µmol/L.
- Precisão:

Concentração média	Repetibilidade (CV)	No laboratório (CV)
0,608 mg/dL = 10,4 µmol/L	4,3 %	5,3 %
1,68 mg/dL = 28,8 µmol/L	2,0 %	2,9 %

Veracidade: Os resultados obtidos com estes reagentes não apresentam diferenças significativas quando são comparados com reagentes de referência. A informação das experiências comparativas está disponível a pedido.

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Interferências: a hemólise (hemoglobina até 25 mg/dL) e a lipemia (triglicéridos até 1300 mg/dL) interferem. Outros fármacos e substâncias podem interferir<sup>8</sup>.
- Ocasionalmente, naquelas amostras em que as concentrações de bilirrubina directa e total são muito semelhantes, podem ser obtidos alguns valores mais altos para a bilirrubina directa do que para a bilirrubina total.

### BIBLIOGRAFIA

- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
- Thaler M, Luppa PB and Schlebusch H. Bilirubin measurement – an updated survey. J Lab Med 2008; 32:1-9.
- Zoppi F, Peracino A, Fenili D, Marcovina S and Ramella C. Metodo per la determinazione della bilirrubina totale e conjugata. Uso di un tensioattivo cationico come agente solubilizzante. Giorn It Chim Ci 1976; 1:343-359.
- Pearlman FC and Lee RTY. Detection and measurement of total bilirubin in serum, with use of surfactants as solubilizing agents. Clin Chem 1974; 20: 447-453.
- World Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. Document WHO/DIL/LAB/99.1, Rev.2; 2002.
- Larson DL. Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier, 2017:358.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.

### PARÂMETROS DE ENSAIO:

Estes reagentes podem ser utilizados na maior parte dos analisadores automáticos. Em muitos deles, as instruções específicas aplicáveis estão disponíveis a pedido.

R1: utilizar o reagente A

R2: utilizar o reagente B.

	BA200	BA400
<b>GERAL</b>	<b>BILIRUBIN DIRECT</b>	<b>BILIRUBIN DIRECT</b>
Nome	D-BIL	D-BIL
Nome abreviado	soro / plasma	soro / plasma
Tipo de amostra	diferencial bi-reagente	diferencial bi-reagente
Modo de análise	mg/dL	mg/dL
Unidade	2	2
Decimais	crescente	crescente
Tipo de reacção		
<b>PROCEDIMENTO</b>		
Modo de leitura	bicromática	bicromática
Filtro principal	535	535
Filtro de referência	670	670
Amostra	14	14
Vol. R1	240	240
Vol. R2	60	60
Leitura 1 (ciclo)	16	35
Leitura 2 (ciclo)	20	39
Fator de pré-diluição	-	-
<b>CALIBRAGEM E BRANCO</b>		
Tipo de branco	água destilada	água destilada
Modo de calibragem	calibrador experimental	calibrador experimental
Número de calibradores	1	1
Curva de calibragem	-	-
<b>OPÇÕES</b>		
Limite de absorção do branco	0,040	0,040
Limite do branco cinético	-	-
Limite de linearidade	15	15
Substrato consumido	-	-