

### Quantitative determination of direct bilirubin IVD

Store at 2-8°C

#### PRINCIPLE OF THE METHOD

Direct bilirubin (conjugated) couples with the diazo reagent in the presence of sulfamic acid to form azobilirubin. The intensity of color formed is proportional to the bilirubin concentration in the sample tested. The increase of absorbance at 546 nm is directly proportional to the direct bilirubin concentration.

#### CLINICAL SIGNIFICANCE

Bilirubin is caused by the degradation of hemoglobin and exists in two forms. Unconjugated bilirubin is transported to the liver bound by albumin where it becomes conjugated (direct) with glucuronic acid and excreted. Hyperbilirubinemia is the result of an increase of bilirubin in plasma. Possible causes: **Total bilirubin:** Increase hemolysis, genetic, neonatal jaundice, ineffective erythropoiesis and presence of drugs. **Direct bilirubin:** Hepatic cholestasis, genetic, hepatocellular damage. Clinical diagnosis should not be made based on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

#### REAGENTS

<b>R 1</b>	Sulfamic acid	100 mM
<b>R 2</b>	2,4-DPD	0,5 mM
	Hydrochloric acid (HCl)	0,3 M

#### PRECAUTIONS

R1: H314 - Irritation or skin corrosion. / R2: H290- Corrosive to metals. H335 - May cause respiratory irritation. H314 - Irritation or skin corrosion.

R2: contains HCl and 2,4-DPD.

Follow the safety advice given in MSDS and product label.

#### PREPARATION

The reagents are provided in a ready to use format.

#### STORAGE AND STABILITY

The reagents are stable until the expiry date stated on the label when stored at

2-8°C, protected from light and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

#### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.

#### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 546 nm.
- General laboratory equipment.

#### SAMPLES

Serum or plasma, free of hemolysis. Protect samples from light.

Stability of the sample: 4 days at 2-8°C or 2 months at -20°C.

#### REFERENCE VALUES

Direct bilirubin 0 – 0,2 mg/dL (0 – 3,42 µmol/L)

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

#### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

#### INTERFERENCES

Interferences from hemolysis, lipemia and ascorbic acid were evaluated for this direct bilirubin method on a Spintech 240 analyzer. Two concentrations of direct bilirubin were evaluated. No interferences were observed for lipemia (Intralipid) up to 350 mg/dL and ascorbic acid up to 40 mg/L. Hemolysis causes decreased direct bilirubin values.

A list of drugs and other interfering substances with bilirubin has been reported by Young et. al <sup>4,5</sup>.

#### APPLICATION SPINLAB 180

Name	BILIRUBIN D	Ref. male low	*
Abbr.name	BILD	Ref. male high	*
Mode	Twopoint	Ref. female low	*
Wavelength	546 nm	Ref. female high	*
Units	mg/dL	Ref. Ped. low	*
Decimals	2	Ref. Ped. high	*
Low conc.	0,03 mg/dL	Valor pánico bajo	*
High conc.	9,00 mg/dL	Valor pánico alto	*
Calibrator	CAL	Control 1	*
Prozone check	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
<b>DUAL MODE</b>		<b>MONO MODE</b>	
Sample blank	No	Sample blank	No
R1 bottle (mL)	25 mL	R1 bottle (mL)	25 mL
Normal volume	240 µL	Normal volume	** µL
Rerun volume	240 µL	Rerun volume	** µL
Sample		Sample	
Normal volume	15,0 µL	Normal volume	** µL
Rerun volume	15,0 µL	Rerun volume	** µL
R2 bottle (mL)	5 mL		
Normal volume	60 µL		
Rerun volume	60 µL		
Predilution	No		
Incubation time	-3.236 seg.	Incubation time	**
Factor	**	Factor	**
Reagent blank	Yes (0.000)	Reagent blank	Yes (0.000)
Low Absorbance	-0.100 Abs Abs	Low Absorbance	-0.100 Abs Abs
High Absorbance	3.000 Abs Abs	High Absorbance	3.000 Abs Abs
R.Abs.L.Limit	-0.100 Abs Abs	R.Abs.L.Limit	-0.100 Abs Abs
R.Abs.H.Limit	3.000 Abs Abs	R.Abs.H.Limit	3.000 Abs Abs
R. Abs. Deviation	3.000 Abs Abs	R. Abs. Deviation	3.000 Abs Abs

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From *detection limit* of 0,03 mg/dL to *linearity limit* of 9 mg/dL. If the results obtained are greater than the linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

#### Precision:

Mean (mg/dL)	Inter assay (n= 40)		Intra assay (n= 80)	
	0,7458	2,444	0,7458	2,444
SD	0,05868	0,0550	0,0276	0,024
CV (%)	7,9	2,2	3,7	1,0

**Sensitivity:** 1 mg/dL = 0,040 Abs. units

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x) on a Spintech 240 analyzer. The results obtained using 53 samples ranging from 0,06 a 9 mg/dL (1,02 to 153,9 µmol/L) were:

Correlation coefficient (r): 0,9986

Regression equation:  $y = 1,0056x - 0,1046$

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

#### NOTES

1. SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

#### BIBLIOGRAPHY

1. David G Levitt and Michael D Levitt. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease. Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 307–328.
2. Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2: 481-491.
3. Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966: Acta 13: 61-170.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

#### PACKAGING

Ref: SP1001047	Cont.	R 1: 10 x 20 mL
		R 2: 10 x 5 mL

**Determinación cuantitativa de bilirrubina directa**  
**IVD**

Conservar a 2-8°C

**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

La bilirrubina directa (conjugada) se combina con la sal de diazonio en presencia de un ácido sulfámico para formar el compuesto coloreado, azobilirrubina. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada. El aumento de la absorbancia a 546 nm es directamente proporcional a la concentración de bilirrubina directa.

**SIGNIFICADO CLÍNICO**

La bilirrubina se origina por la degradación de la hemoglobina y existe en dos formas. La bilirrubina no conjugada se transporta al hígado, unida por la albúmina, donde se convierte en conjugada (directa) con el ácido glucurónico y se excreta. La hiperbilirrubinemia es el resultado de un incremento de la bilirrubina en plasma. Causas más probables de la hiperbilirrubinemia:

Bilirrubina Total: Aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones eritropoyéticas, presencia de drogas.

Bilirrubina Directa: Colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

**REACTIVOS**

<b>R 1</b>	Ácido sulfámico	100 mM
<b>R 2</b>	2,4-DPD Ácido clorhídrico (HCl)	0,5 mM 0,3 M

**PRECAUCIONES**

R1: H314-Irritación o corrosión / R2: H290- Corrosivo para los metales. H335 - Puede irritar las vías respiratorias. H314-Irritación o corrosión.

R2: contiene HCl and 2,4-DPD.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

**PREPARACIÓN**

Todos los reactivos están listos para su uso.

**CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD**

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:**

- Presencia de partículas y turbidez.

**MATERIAL ADICIONAL**

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 546 nm.  
 - Equipamiento habitual de laboratorio.

**MUESTRAS**

Suero o plasma libre de hemólisis<sup>1</sup>. Proteger de la luz.  
 Estabilidad de la muestra: 4 días a 2-8°C o 2 meses a -20°C.

**VALORES DE REFERENCIA**

Bilirrubina Directa 0- 0,2 mg/dL (0 -3,42 µmol/L)

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**CONTROL DE CALIDAD**

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

**INTERFERENCIAS**

Las interferencias debidas a la hemólisis, lipemia y a. ascórbico se evaluaron para este método de bilirrubina directa en un analizador 240 Spintech. Se evaluaron dos concentraciones de la bilirrubina directa. No se observaron interferencias para la lipemia (Intralipid) hasta 350 mg /dL y ácido ascórbico hasta 40 mg/L.

La hemólisis produce una interferencia considerable, por lo que no se deben emplear muestras hemolizadas.

Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren con la determinación del bilirrubina<sup>4,5</sup>.

**APLICACIÓN AL SPINLAB 180**

Nombre	BILIRRUBINA D	Ref. Hombre Inf.	*
Nombre abreviado	BILD	Ref. Hombre Sup.	*
Modo	Dos puntos	Ref. Mujer Inf.	*
Long. ondas	546 nm	Ref. Mujer Sup.	*
Unidades	mg/dL	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	2	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	0,03 mg/dL	Valor pánico bajo	*
Conc. Superior	9,00 mg/dL	Valor pánico alto	*
Calibrador	CAL	Control 1	*
Chequeo prozona	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
<b>MODO DUAL</b>		<b>MODO MONO</b>	
Blanco muestra	No	Blanco muestra	No
Frasco R1 (mL)	25 mL	Frasco R1 (mL)	25 mL
Vol. normal	240 µL	Vol. Normal	** µL
Vol. repet.	240 µL	Vol. repet.	** µL
Muestra		Muestra	
Vol. normal	15.0 µL	Vol. normal	** µL
Vol. repet.	15.0 µL	Vol. repet.	** µL
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. Normal	60 µL		
Vol. repet.	60 µL		
Predilución	No		
Incubación	-3.236 seg.	Incubación	**
Factor	**	Factor	**
Blanco reactivo	Si (0.000)	Blanco reactivo	SI (0.000)
Absorbancia inf.	-0.100 Abs Abs	Absorbancia inf.	-0.100 Abs Abs
Absorbancia sup.	3.000 Abs Abs	Absorbancia sup.	3.000 Abs Abs
Lim. Inf. Abs. React.	-0.100 Abs Abs	Lim. Inf. Abs. React.	-0.100 Abs Abs
Lim. Sup. Abs. React.	3.000 Abs Abs	Lim. Sup. Abs. React.	3.000 Abs Abs
R. Abs. Desviación	3.000 Abs Abs	R. Abs. Desviación	3.000 Abs Abs

**CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**

**Rango de medida:** Desde el *límite de detección* de 0,03 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 9 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

**Precisión:**

	Interserie (n= 40)		Intraserie (n= 80)	
	Media (mg/dL)	0,7458	2,444	0,7458
SD	0,05868	0,0550	0,0276	0,024
CV (%)	7,9	2,2	3,7	1,0

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,040 Abs.

**Exactitud:** Los resultados obtenidos usando reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x) con el analizador Spintech 240. Los resultados obtenidos con 53 muestras con valores de entre 0,06 a 9 mg/dL (1,02 a 153,9 µmol/L) fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,9986.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,0056 x – 0,1046

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

**NOTAS**

1. SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

**BIBLIOGRAFÍA**

- David G Levitt and Michael D Levitt. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease. Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 307–328.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2: 481-491.
- Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966: Acta 13: 61-170.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRESENTACIÓN**

Ref: SP1001047	Cont.	R 1: 10 x 20 mL
		R 2: 10 x 5 mL

**Détermination quantitative de bilirubine directe IVD**

Conserver à 2 - 8°C.

**PRINCIPE DE LA MÉTHODE**

La bilirubine directe (conjuguée) s'associe au sel de diazonium en présence d'un acide sulfamique pour former le composé coloré, azobilirubine. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine présente dans l'échantillon testé. L'augmentation de l'absorption à 546 nm est directement proportionnelle à la concentration de bilirubine directe.

**SIGNIFICATION CLINIQUE**

La bilirubine est créée par la dégradation de l'hémoglobine et existe sous deux formes. La bilirubine non conjuguée est transportée vers le foie, unie par l'albumine, où elle se transforme en conjuguée (directe) avec l'acide glucuronique et elle est excrétée. L'hyperbilirubinémie est le résultat d'une augmentation de la bilirubine dans le plasma. Les causes les plus probables de l'hyperbilirubinémie :

**Bilirubine totale** : Augmentation de l'hémolyse, altérations génétiques, anémie néonatale, altérations érythrocytaires, présence de médicaments.

**Bilirubine directe** : Cholestase hépatique, altérations génétiques et altérations hépatiques.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant en compte toutes les données cliniques et de laboratoire.

**RÉACTIFS**

<b>R 1</b>	Acide sulfamique	100 mM
<b>R 2</b>	2,4-DPD Acide chlorhydrique (HCl)	0,5mM 0,3 M

**PRÉCAUTIONS**

R1 : H314-Irritation ou corrosion / R2: H290- Corrosif pour les métaux. H335 - Peut irriter les voies respiratoires. H314-Irritation ou corrosion R2 : contient HCl et 2,4-DPD.

Suivre les conseils de prudence indiqués sur la FDS et sur l'étiquette du produit.

**PRÉPARATION**

Tous les réactifs sont prêts à être utilisés.

**CONSERVATION ET STABILITÉ**

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette, quand ils sont conservés bien fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et que leur contamination est évitée pendant leur utilisation. Ne pas utiliser des réactifs au-delà de la date indiquée.

**Indicateurs de détérioration des réactifs :**

- La présence de particules et de turbidité.

**MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE**

- Auto-analyseur SPINLAB 180.
- Équipement habituel de laboratoire.

**ÉCHANTILLONS**

Sérum ou plasma sans hémolyse. Protéger de la lumière. Stabilité de l'échantillon : 4 jours à 2-8°C ou 2 mois à -20°C.

**CONTRÔLE DE QUALITÉ**

Il convient d'analyser avec les échantillons de sérums de contrôle évalués :

SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs trouvées sont en dehors de la gamme de tolérance, il faut vérifier l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre Contrôle de qualité et établir des corrections dans le cas où les contrôles ne sont pas conformes aux tolérances exigées.

**INTERFERENCES**

Les interférences dues à l'hémolyse, lipémie et a. ascorbique ont été évaluées pour cette méthode de bilirubine directe sur un analyseur Spintech 240. Deux concentrations de la bilirubine directe ont été évaluées. Aucune interférence n'a été observée pour la lipémie (Intralipid) jusqu'à 350 mg/dL et l'acide ascorbique jusqu'à 40 mg/L. L'hémolyse produit une interférence considérable, par conséquent il ne faut pas utiliser des échantillons hémolysés. Nous avons décrit plusieurs médicaments et d'autres substances qui interfèrent avec la détermination de la bilirubine <sup>4,5</sup>

**APPLICATION AU SPINLAB 180**

Name	BILIRUBIN D	Ref. male low	*
Abbr.name	BILD	Ref. male high	*
Mode	Twopoint	Ref. female low	*
Wavelength	546 nm	Ref. female high	*
Units	mg/dL	Ref. Ped. low	*
Decimals	2	Ref. Ped. high	*
Low conc.	0.03 mg/dL	Valor pánico bajo	*
High conc.	9.00 mg/dL	Valor pánico alto	*
Calibrator	CAL	Control 1	*
Prozone check	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
<b>DUAL MODE</b>		<b>MONO MODE</b>	
Sample blank	No	Sample blank	No
R1 bottle (mL)	25 mL	R1 bottle (mL)	25 mL
Normal volume	240 µL	Normal volume	** µL
Rerun volume	240 µL	Rerun volume	** µL
Sample		Sample	
Normal volume	15.0 µL	Normal volume	** µL
Rerun volume	15.0 µL	Rerun volume	** µL
R2 bottle (mL)	5 mL		
Normal volume	60 µL		
Rerun volume	60 µL		
Predilution	No		
Incubation time	-3.236 seg.	Incubation time	**
Factor	**	Factor	**
Reagent blank	Yes (0.000)	Reagent blank	Yes (0.000)
Low Absorbance	-0.100 Abs Abs	Low Absorbance	-0.100 Abs Abs
High Absorbance	3.000 Abs Abs	High Absorbance	3.000 Abs Abs
R.Abs.L.Limit	-0.100 Abs Abs	R.Abs.L.Limit	-0.100 Abs Abs
R.Abs.H.Limit	3.000 Abs Abs	R.Abs.H.Limit	3.000 Abs Abs
R. Abs. Deviation	3.000 Abs Abs	R. Abs. Deviation	3.000 Abs Abs

**VALEURS DE RÉFÉRENCE**

Bilirubine directe 0- 0,2 mg/dL (0 -3,42 µmol/L)

Ces valeurs sont indicatives. Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

**CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE**

**Gamme de mesure:** Depuis la *limite de détection* de 0,03 mg/dL jusqu'à la *limite de linéarité* de 9mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec NaCl 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

**Précision :**

	Inter-série (n= 40)		Intra-série (n= 80)	
Moyenne (mg/L)	0,7458	2,444	0,7458	2,444
SD	0,05868	0,0550	0,0276	0,024
CV (%)	7,9	2,2	3,7	1,0

**Sensibilité analytique :** 1 mg/dL = 0,040Abs.

**Exactitude :** Les résultats obtenus en utilisant les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives quand ils sont comparés à d'autres réactifs commerciaux (x) avec l'analyseur Spintech 240. Les résultats obtenus avec 53 échantillons avec des valeurs de 0,06 à 9 mg/dL (1,02 à 153,9 µmol/L) furent les suivants :  
Coefficient de corrélation (r) : 0,9986.

Equation de la droite de régression : y = 1,0056x - 0,1046

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

**REMARQUES**

1. SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs

**BIBLIOGRAPHIE**

1. David G Levitt and Michael D Levitt. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease. Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 307-328.
2. Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
3. Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966: Acta 13: 61-170.
4. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
5. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
6. Burtis A et al. Tietz Text book of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
7. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PRÉSENTATION**

Ref: SP1001047	Cont.	R 1: 10 x 20 mL
		R 2: 10 x 5 mL

## Determinação quantitativa de bilirrubina direta IVD

Conservar entre 2-8 °C

### PRINCÍPIO DO MÉTODO

A bilirrubina direta (conjugada) liga-se ao sal de diazônio na presença de um ácido sulfâmico para formar o composto colorido azobilirrubina. A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de bilirrubina presente na amostra testada. O aumento da absorvância a 546 nm é diretamente proporcional à concentração de bilirrubina direta.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A bilirrubina resulta da degradação da hemoglobina e existe em duas formas. A bilirrubina não conjugada é transportada para o fígado ligada à albumina, onde se converte na forma conjugada (direta) com o ácido glicurónico e é excretada. A hiperbilirrubinemia é o resultado de um aumento da bilirrubina no plasma. Causas mais prováveis da:

**Bilirrubina Total:** Aumento da hemólise, alterações genéticas, anemia neonatal, alterações eritropoiéticas, presença de fármacos.

**Bilirrubina direta:** Colestase hepática, alterações genéticas e alterações hepáticas.

O diagnóstico clínico deve realizar-se tendo em consideração todos os dados clínicos e laboratoriais.

### REAGENTES

<b>R 1</b>	Ácido sulfâmico	100 mM
<b>R 2</b>	2,4-DPD Ácido clorídrico (HCl)	0,5 mM 0,3 M

### PRECAUÇÕES

R1: H314- Provoca irritação ou corrosão / R2: H290 - Pode ser corrosivo para os metais.

H335 - Pode provocar irritação das vias respiratórias. H314- Provoca irritação ou corrosão

R2: contém HCl e 2,4-DPD.

Seguir os conselhos de prudência indicados na FDS e na etiqueta do produto.

### PREPARAÇÃO

Todos os reagentes estão prontos a ser utilizados.

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até ao prazo de validade indicado na etiqueta, quando os frascos são mantidos bem fechados, a uma temperatura entre 2-8 °C, protegidos da luz e se evita a sua contaminação. Não utilizar reagentes que tenham ultrapassado o prazo indicado.

### Indicadores de degradação dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.

### EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador capaz de medir a absorvância a 546 nm.  
- Equipamento habitual de laboratório.

### AMOSTRAS

Soro ou plasma livre de hemólise. Proteger da luz.

Estabilidade da amostra: durante 4 dias a 2-8 °C ou durante 2 meses a -20 °C.

### CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras de soro de controlo avaliados:

SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores determinados se encontrarem fora do intervalo de tolerância, deve-se verificar o aparelho, os reagentes e a calibração

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer procedimentos de correção no caso de os controlos não cumprirem as tolerâncias.

### INTERFERÊNCIAS

As interferências devidas a hemólise, lipémia e ácido ascórbico foram avaliadas neste método de bilirrubina direta num analisador Spintech 240. Foram avaliadas duas concentrações de bilirrubina direta. Não foram observadas interferências da lipémia (Intralipid) até 350 mg/dl e do ácido ascórbico até 40 mg/l.

A hemólise produziu uma interferência considerável, pelo que não se devem utilizar amostras hemolizadas.

Foram descritos vários fármacos e outras substâncias que interferem na determinação da bilirrubina<sup>4,5</sup>.

## APLICAÇÃO AO SPINLAB 180

Name	BILIRUBIN D	Ref. male low	*
Abbr.name	BILD	Ref. male high	*
Mode	Twopoint	Ref. female low	*
Wavelength	546 nm	Ref. female high	*
Units	mg/dL	Ref. Ped. low	*
Decimals	2	Ref. Ped. high	*
Low conc.	0.03 mg/dL	Valor pánico bajo	*
High conc.	9.00 mg/dL	Valor pánico alto	*
Calibrator	CAL	Control 1	*
Prozone check	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
<b>DUAL MODE</b>		<b>MONO MODE</b>	
Sample blank	No	Sample blank	No
R1 bottle (mL)	25 mL	R1 bottle (mL)	25 mL
Normal volume	240 µL	Normal volume	** µL
Rerun volume	240 µL	Rerun volume	** µL
Sample		Sample	
Normal volume	15.0 µL	Normal volume	** µL
Rerun volume	15.0 µL	Rerun volume	** µL
R2 bottle (mL)	5 mL		
Normal volume	60 µL		
Rerun volume	60 µL		
Predilution	No		
Incubation time	-3.236 seg.	Incubation time	**
Factor	**	Factor	**
Reagent blank	Yes (0.000)	Reagent blank	Yes (0.000)
Low Absorbance	-0.100 Abs Abs	Low Absorbance	-0.100 Abs Abs
High Absorbance	3.000 Abs Abs	High Absorbance	3.000 Abs Abs
R.Abs.L.Limit	-0.100 Abs Abs	R.Abs.L.Limit	-0.100 Abs Abs
R.Abs.H.Limit	3.000 Abs Abs	R.Abs.H.Limit	3.000 Abs Abs
R. Abs. Deviation	3.000 Abs Abs	R. Abs. Deviation	3.000 Abs Abs

### VALORES DE REFERÊNCIA

Bilirrubina direta 0- 0,2 mg/dl (0 -3,42 µmol/l)

Estes valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

### CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

**Intervalo de medição:** Desde o *limite de detecção* de 0,03 mg/dl até ao *limite de linearidade* de 9 mg/dl.

Se a concentração da amostra for superior ao limite de linearidade, diluir 1/2 com NaCl 9 g/l e multiplicar o resultado final por 2.

### Precisão:

Média (mg/dl)	Intersérie (n=40)		Intrasérie (n=80)	
	0,7458	2,444	0,7458	2,444
SD	0,05868	0,0550	0,0276	0,024
CV (%)	7,9	2,2	3,7	1,0

**Sensibilidade analítica:** 1 mg/dl = 0,040Abs.

**Exatidão:** Os resultados obtidos com a utilização de reagentes SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais (x) utilizando o analisador Spintech 240. Os resultados obtidos com 53 amostras com valores entre 0,06 a 9 mg/dl (1,02 a 153,9 µmol/l) foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r): 0,9986.

Equação da reta de regressão:  $y = 1,0056x - 0,1046$

As características do método podem variar em função do analisador utilizado.

### NOTAS

1. A SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores.

### BIBLIOGRAFIA

- David G Levitt and Michael D Levitt. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease. Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 307-328.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2; 481-491.
- Martinek R. Improved micro-method for determination of serum bilirubin. Clin Chim 1966; Acta 13: 61-170.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### APRESENTAÇÃO

Ref: SP1001047	Cont.	R 1: 10 x 20 mL
		R 2: 10 x 5 mL