

# BILIRRUBINA TOTAL AUTOMAÇÃO

REF **K106**

## INSTRUÇÕES DE USO

## USO VETERINÁRIO

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ACESSORIA AO CLIENTE:

SAC: (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

### FINALIDADE

Método para determinação da Bilirrubina Total em amostras biológicas de soro ou plasma (EDTA ou Heparina). Teste colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia:** Teste Colorimétrico - DPD

A Bilirrubina Total, através da reação de acoplamento com Diclorofenil Diazônico Tetrafluoroborato, forma um azocomposto, um complexo de coloração vermelha, com absorção máxima em 546 nm. A intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração de Bilirrubina Total na amostra.

### APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente N° 1	Reagente N° 2
K106-1-VET	1 x 40 mL	1 x 10 mL

### REAGENTES

**Reagente Número 1 - Tampão** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido Sulfanílico < 100 mmol/L, estabilizante, surfactantes e conservante.

**Reagente Número 2 - Reagente de Cor** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Diclorofenil Diazônio Tetrafluoroborato < 10 mmol/L, estabilizante e surfactante.

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Para a realização da técnica é necessário equipamento bioquímico automático, kits Biocal e Biocontrol N e P Bioclin.

### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 e 8°C. O transporte em temperaturas até 30°C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

### CUIDADOS ESPECIAIS

**1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

**2-** O Reagente N° 2 deve ser mantido ao abrigo da luz.

**3-** O Reagente N° 1 pode apresentar turbidez quando submetido a baixas temperaturas. Caso isso ocorra, deixar o kit estabilizar em temperatura ambiente (15 a 30 °C).

**4-** A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.

**5-** Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

**6-** Hemólise, mesmo discreta, interfere na dosagem.

**7-** O Reagente N° 1 contém Azida Sódica, irritante para pele e mucosas. Manusear com cuidado o reagente.

**8-** Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo

com a legislação vigente.

**9-** Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha de Dados de Segurança) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

**10-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

**11-** É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

### AMOSTRAS

Soro ou plasma (EDTA ou Heparina) livres de hemólise.

**A amostra deve ser protegida da luz.**

A amostra é estável por 3 dias entre 2 e 8°C e 3 meses a -20°C.

A amostra para controle terapêutico deve ser colhida sempre no mesmo horário.

### DESCRIÇÃO DO PROCESSO

A estabilidade de calibração do kit Bilirrubina Total Automação instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

### PREPARO DOS REAGENTES

Os reagentes estão prontos para uso.

### TÉCNICA

Para uso do kit utilizar como calibrador o kit Biocal Bioclin e como soro controle o kit Biocontrol N e P Bioclin.

O kit é indicado somente para uso em analisadores bioquímicos automáticos. **Verificar a programação para o equipamento no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através do SAC.**

### INTERFERENTES

Hemólise, mesmo que discreta, interfere na dosagem da Bilirrubina. Nenhuma interferência foi observada por triglicerídeos até 1500 mg/L. A exposição da amostra à luz pode levar a resultados falsamente diminuídos.

### CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e

a exatidão das dosagens.

### RASTREABILIDADE

A Bioclin recomenda o uso do calibrador BIOCAL, que é rastreável ao material de referência SRM 916A do NIST (National Institute of Standards and Technology).

### VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência foram determinados em amostras de soro de populações saudáveis de cães, gatos, bovinos e equinos, machos e fêmeas, adultos e sem predileção por raça.

Espécie	Valor de Referência
Cão	0,046 - 0,257 mg/dL
Gato	0,05 - 0,29 mg/dL
Bovino	0,07 - 0,7 mg/dL
Equino	0,067 - 1,54 mg/dL

Para converter os valores de mg/dL para mmol/L (SI), multiplicar os resultados obtidos por 0,0171.

Estes valores devem ser usados como orientação e cada laboratório deverá estabelecer o seu próprio valor de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional Médico Veterinário, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

### DESEMPENHO DO PRODUTO

#### EXATIDÃO

#### Comparação de Métodos

O kit Bilirrubina Total Automação foi comparado com outros métodos comercialmente disponíveis para dosagem de Bilirrubina Total. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi  $Y = 0,9983X - 0,0654$  e o coeficiente de correlação linear 0,9955. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

**PRECISÃO****Repetibilidade**

A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
<b>Concentração Média (mg/dL)</b>	1,24	2,06	0,78
<b>Desvio Padrão (mg/dL)</b>	0,02	0,02	0,01
<b>Coefficiente de Variação (%)</b>	1,45	0,97	1,69

**Reprodutibilidade**

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
<b>Concentração Média (mg/dL)</b>	1,27	2,05	0,80
<b>Desvio Padrão (mg/dL)</b>	0,04	0,05	0,03
<b>Coefficiente de Variação (%)</b>	3,16	2,50	3,51

**SENSIBILIDADE**

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta de Bilirrubina Total. A média encontrada foi 0,044 mg/dL com desvio padrão de 0,005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, que corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, é igual 0,058 mg/dL.

**LINEARIDADE**

A reação é linear até a concentração de 30 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado assim obtido pelo fator de diluição empregado.

**SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO**

A bilirrubina é resultado da degradação da hemoglobina presente nas hemácias pelo sistema reticulo-endotelial. Após o processo de oxidação e redução, a hemoglobina se transforma em bilirrubina, que sofre conjugação nos hepatócitos e é eliminada no lúmen intestinal. A bilirrubina total é composta pela bilirrubina direta (que sofreu conjugação) e pela bilirrubina indireta (não conjugada). Alterações na concentração normal de bilirrubina são forte indicativo de alterações hepatobiliares e outras causas de icterícia.

As alterações hepatobiliares podem ser de origem:

- Pré-hepática: decorrente de processos hemolíticos em que geralmente a fração não conjugada da bilirrubina excede a fração conjugada.

- Hepática: ocorre por falha no processo de conjugação da hemoglobina nos hepatócitos em casos de falha no funcionamento destas células.

- Pós-hepática: Ocorre por defeitos na eliminação da bilirrubina conjugada. Isso ocorre geralmente por

obstrução parcial ou total do ducto biliar.

Nos bovinos, a anemia hemolítica causada pela anaplasmosose é uma causa importante de hiperbilirrubinemia devido à anemia hemolítica causada por este patógeno. Outra causa importante do aumento da bilirrubina total circulante é a lipidose hepática e intoxicação por cobre.

Nos equinos, a elevação da bilirrubina pode ocorrer devido a períodos prolongados de jejum e, portanto, pode ocorrer de forma secundária à outras patologias quando o animal para de se alimentar. A isoeitricólise neonatal e patologias que causam hepatite aguda são causas comuns da elevação de bilirrubina nesta espécie.

Em cães e gatos, a elevação da bilirrubina está associada a doenças hemolíticas, hepatopatias inflamatórias e infecciosas e obstruções biliares de diversas causas. Em cães, é comum que a elevação da bilirrubina no sangue ocorra de forma aguda, uma vez que após 2 a 3 dias ocorra uma compensação renal entre a taxa de produção e excreção de bilirrubina, que tende a voltar à concentração normal sérica após este período. Diferente do que ocorre nos cães, este mecanismo compensatório não ocorre nos gatos, e a hiperbilirrubinemia pós-hepática pode persistir até a remoção de sua causa.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 - Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:192-202.
- 2 - Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors, Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1125-77.
- 3 - Rand RN, di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin Chem 1962; 6:570-8.
4. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
5. EClínPahth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
6. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

**GARANTIA DE QUALIDADE**

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle da Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

**ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR**

Serviço de Assessoria ao Cliente  
Tel.: 0800 031 5454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

**Número de Registro:** Produto isento de registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

**Responsável Técnica:** Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611).

**Revisão:** Junho/2025

**SIMBOLOGIA UNIVERSAL**

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <math>\leq</math> TESTE		INFLÂMÁVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

**BILIRRUBINA TOTAL AUTOMACIÓN****USO VETERINARIO**REF **K106**

PARA OBTENER LAS INSTRUCCIONES DE USO EN FORMATO IMPRESO, SIN COSTO ADICIONAL, CONTACTE CON EL SERVICIO DE ASESORAMIENTO AL CLIENTE:

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

**INSTRUCCIONES DE USO****FINALIDAD**

Método para la determinación de la Bilirrubina Total en muestras biológicas de suero o plasma (EDTA o Heparina). Test colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

**PRINCIPIO DE ACCIÓN**

**Metodología:** Test Colorimétrico - DPD

A Bilirrubina Total, a través de la reacción de acoplamiento con la Diclorofenil Diazonio Tetrafluoroborato, forma un azocompuesto, un complejo de coloración rojo, con absorción máxima en 546 nm. La intensidad de color formado es directamente proporcional a la concentración de Bilirrubina Total en la muestra.

**PRESENTACIÓN**

Presentación	Reactivo N° 1	Reactivo N° 2
K106-1-VET	1 x 40 mL	1 x 10 mL

**REACTIVOS**

**Reactivo Número 1 - Tampón** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Ácido Sulfámico < 100 mmol/L, estabilizante, surfactantes y conservante.

**Reactivo Número 2 - Reactivo de Color** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Diclorofenil Diazonio Tetrafluoroborato < 10 mmol/L, estabilizante y surfactante.

**EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES**

Para la realización de la técnica es necesario equipo bioquímico automatizado, kits Biocal y Biocontrol N y P Bioclin.

**CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE**

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 y 8 °C. El transporte en temperaturas hasta 30 °C no deberá exceder 5 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

**CUIDADOS ESPECIALES**

**1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.**

**2- El Reactivo N° 2 debe ser mantenido al abrigo de la luz.**

**3- El Reactivo N° 1 puede presentar turbidez cuando se somete a bajas temperaturas. Si esto ocurre, dejar que el kit se establezca a temperatura ambiente (15 a 30 °C).**

**4- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de agentes contaminantes.**

**5- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.**

**6- Hemólisis, mismo discreta, interfiere en la dosificación.**

**7- El Reactivo N° 1 contiene Azida Sódica, irritante para la piel y mucosas. Manejar con cuidado el reactivo.**

**8- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de**

reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

**9- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponibles en el site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa**

**10- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.**

**11- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.**

**MUESTRAS**

Suero o plasma (EDTA o Heparina) libres de hemólisis.

**La muestra debe ser protegida de la luz.**

La muestra es estable por 3 días entre 2 y 8 °C y 3 meses a -20 °C.

La muestra para control terapéutico debe ser cogida siempre al mismo horario.

**DESCRIPCIÓN DEL PROCESO**

La estabilidad de calibración del kit de Bilirrubina Total Automación instalado en equipos refrigerados es de al menos 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control.

**PREPARO DE LOS REACTIVOS**

Los reactivos están listos para uso.

**TÉCNICA**

Para uso del kit utilizar como calibrador el kit Biocal Bioclin y como suero control lo kit Biocontrol N y P Bioclin.

El kit es indicado solamente para uso en analizadores bioquímicos automáticos. **Verificar la programación para el equipamiento en el site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) a través del SAC.**

**INTERFERENCIAS**

La hemólisis, aunque sea leve, interfiere con la dosis de bilirrubina. No se observaron interferencias con triglicéridos hasta 1500 mg/L. La exposición de la muestra a la luz puede dar lugar a resultados falsamente disminuidos.

**CONTROL INTERNO DE CALIDAD**

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios

laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

**TRAZABILIDAD**

Bioclin recomienda el uso del calibrador BIOCAL que es trazable al material de referencia SRM 916A del NIST (National Institute of Standards and Technology).

**VALORES DE REFERENCIA**

Los valores de referencia se determinaron en muestras de suero de poblaciones sanas de perros, gatos, bovinos y equinos, machos y hembras, adultos y sin predilección de raza.

Especies	Valor de Referencia
Perros	0,046 - 0,257 mg/dL
Gatos	0,05 - 0,29 mg/dL
Bovinos	0,07 - 0,7 mg/dL
Caballos	0,067 - 1,54 mg/dL

Para convertir los valores de mg/dL para mmol/L (SI), multiplicar los resultados obtenidos por 0,0171.

Estos valores deben ser usados apenas como orientación. Estos valores deben ser utilizados como guía y cada laboratorio debe establecer su propio valor de referencia, de acuerdo a la población atendida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico veterinario, y no son el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

**DESEMPEÑO DEL PRODUCTO****EXACTITUD****Comparación de Metodos**

El kit Bilirrubina Total Automación fue comparado con otros métodos comercialmente disponibles para dosificación de Bilirrubinas Total. Fueron realizados 42 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue  $Y = 0,9983X - 0,0654$  y el coeficiente de correlación lineal 0,9955. Con estos resultados, se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

## PRECISIÓN

### Repetibilidad

La repetibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Repetibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/dL)	1,24	2,06	0,78
Desvío Padrón (mg/dL)	0,02	0,02	0,01
Coefficiente de Variación (%)	1,45	0,97	1,69

### Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Reproductibilidad	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/dL)	1,27	2,05	0,80
Desvío Padrón (mg/dL)	0,04	0,05	0,03
Coefficiente de Variación (%)	3,16	2,50	3,51

## SENSIBILIDAD

La sensibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones de una muestra exenta de Bilirrubina Total. El promedio encontrado fue 0,044 mg/dL con desvío patrón de 0,005 mg/dL. La sensibilidad, que indica el Límite de detección del método, que corresponde al promedio más 3 veces el desvío patrón, es igual a 0,058 mg/dL.

## LINEARIDAD

La reacción es lineal hasta la concentración de 30 mg/dL. Para valores superiores, diluir la muestra con NaCl 0,85% y repetir la dosificación. Multiplicar el resultado así obtenido por el factor de dilución empleado.

## SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La bilirrubina es el resultado de la degradación de la hemoglobina presente en los glóbulos rojos por el sistema retículo-endotelial. Tras el proceso de oxidación y reducción, la hemoglobina se transforma en bilirrubina, que se conjuga en los hepatocitos y se elimina en la luz intestinal. La bilirrubina total se compone de bilirrubina directa (que se ha conjugado) y bilirrubina indirecta (no conjugada). Los cambios en la concentración normal de bilirrubina son fuertes indicadores de cambios hepatobiliares y otras causas de ictericia.

Los cambios hepatobiliares pueden ser de origen:

- Prehepáticos: resultantes de procesos hemolíticos en los que la fracción no conjugada de bilirrubina suele exceder a la fracción conjugada.

- Hepático: se produce por fallo en el proceso de conjugación de la hemoglobina en los hepatocitos en casos de fallo en el funcionamiento de estas células.

- Post-hepática: Se produce por defectos en la eliminación de la bilirrubina conjugada. Esto generalmente se debe a una obstrucción parcial o total en el tracto biliar.

En bovinos, la anemia hemolítica causada por anaplasmosis es una causa importante de hiperbilirrubinemia por anemia hemolítica causada por este patógeno. Otra causa importante del aumento de la bilirrubina total circulante es la lipidosis hepática y la intoxicación por cobre.

En los caballos, la elevación de la bilirrubina puede ocurrir por periodos prolongados de ayuno, y por lo tanto puede ocurrir secundaria a otras patologías cuando el animal deja de alimentarse. La isoeritrolisis neonatal y las patologías que provocan hepatitis aguda son causas comunes de elevación de bilirrubina en esta especie.

En perros y gatos, la elevación de la bilirrubina se asocia con enfermedades hemolíticas, hepáticas inflamatorias e infecciosas y obstrucciones biliares de diversas causas. En perros, es común que la elevación de bilirrubina en sangre se produzca de forma aguda, ya que al cabo de 2 a 3 días se produce una compensación renal entre el ritmo de producción y excreción de bilirrubina, que tiende a volver a la concentración sérica normal pasado este periodo. A diferencia de los perros, este mecanismo compensatorio no ocurre en los gatos y la hiperbilirrubinemia poshepática puede persistir hasta que se elimine la causa.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1125-77.
3. Rand RN, di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin Chem 1962; 6:570-8.
4. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
5. EclinPanth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
6. QUIBASA: Informaciones del Departamento de Investigación y Desarrollo.

## GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son probados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de valides mencionada en la caja de presentación, si son almacenados y transportados en condiciones adecuadas.

## QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: [bioclin@bioclin.com.br](mailto:bioclin@bioclin.com.br)  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

## ATENIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente  
Tel.: 0800 0315454  
E-mail: [sac@bioclin.com.br](mailto:sac@bioclin.com.br)

**Número de Registro:** Producto exento de registro ante el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento.

**Responsable Técnica:** Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611).

**Revisión:** Junio/2025

## SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

**BILIRUBIN TOTAL AUTOMATED****VETERINARY USE**REF **K106**TO OBTAIN THE INSTRUCTIONS FOR USE IN PRINTED FORMAT, AT NO ADDITIONAL COST,  
CONTACT CUSTOMER ADVISORY SERVICE:**INSTRUCTIONS FOR USE**

SAC: +55 (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

**FUNCTION**

Method for determination of Total Bilirubin in biological samples serum or plasma (EDTA or Heparin). Colorimetric test, for *in vitro* diagnostic use only.

**PRINCIPLE OF ACTION**

**Methodology:** Colorimetric Test - DPD

Total Bilirubin, through the coupling reaction with Dichlorophenyl Diazonium Tetrafluoroborate, forms an azocompound, a red colored complex with maximum absorption at 546 nm. The intensity of the color formed is directly proportional to the concentration of Total Bilirubin in the sample.

**PRESENTATION**

Presentation	Reagent N° 1	Reagent N° 2
K106-1-VET	1 x 40 mL	1 x 10 mL

**REAGENTS**

**Reagent Number 1 - Buffer** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Sulfamic Acid < 100 mmol/L, stabilizer, surfactants and preservative.

**Reagent Number 2 - Color Reagent** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Dichlorophenyl Diazonium Tetrafluoroborate < 10 mmol/L, stabilizer and surfactant.

**EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS**

To perform this technique it is required the Biochemistry Automated Equipment, Biocal kit and Biocontrol N and P Bioclin.

**TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS**

The storage temperature should be between 2 to 8 °C. The transport at temperatures up to 30 °C should not exceed 5 days. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

**SPECIAL CARE**

**1- For *in vitro* diagnostic use only.**

**2- Reagent N° 2** must be kept protected from light.

**3- Reagent N° 1** may show turbidity when subjected to low temperatures. If this occurs, allow the kit to stabilize at room temperature (15 to 30 °C).

**4- Water** used in cleaning must be recent and free of contaminants.

**5- Saturated deionizer columns** release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.

**6- Hemolyses**, even if discreet, may interfere in dosage.

**7- Reagent N° 1** contains Sodium Azide, irritant to skin and mucous. Handle reagent with care.

**8- We recommend** applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

**9-** To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

**10-** Do not use the product in case of damaged packaging.

**11-** It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

**SAMPLES**

Serum or plasma (EDTA or Heparin) free of hemolysis.

**Sample must be protected from light.**

The samples is stable for 3 days between 2 and 8°C and 3 months at -20°C.

Sample for therapeutic control should always be collected at the same hour.

**PROCESS DESCRIPTION**

The calibration stability of the Bilirubin Total Automated kit installed on refrigerated equipment is at least 30 days. This stability may vary depending on the conditions of the test, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control serum.

**PREPARATION OF REAGENTS**

Reagents are ready for use.

**TECHNIQUE**

For the use of the kit, use as calibrator the Biocal Bioclin kit and as control serum the Biocontrol N and P Kit Bioclin.

This kit is for use in automated biochemical analyzers.

**Check the application sheet for this equipment on [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) or through SAC.**

**INTERFERING**

Hemolysis, even if slight, interferes with the bilirubin dosage. No interference was observed by triglycerides up to 1500 mg/L. Exposing the sample to light may lead to falsely diminished results.

**INTERNAL QUALITY CONTROL**

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present an analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

**TRACEABILITY**

Bioclin recommends the usage of the BIOCAL calibrator which is traceable to the reference material NIST (National Institute of Standards and Technology) SRM 916A.

**REFERENCE VALUES**

The reference values were determined in serum samples of healthy populations of dogs, cats, cattle and horses, males and females, adults and no breed preference.

Specie	Reference Value
Dogs	0.046 - 0.257 mg/dL
Cats	0.05 - 0.29 mg/dL
Cattle	0.07 - 0.7 mg/dL
Horses	0.067 - 1.54 mg/dL

To convert the values from mg/dL into mmol/L (SI), multiply the results obtained for 0.0171.

These values must be used as a guide and each laboratory must establish its own reference value, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by a veterinary professional, and is not the only criterion to determine the diagnosis and/or treatment of the patient.

**PRODUCT PERFORMANCE ACCURAY****Comparison of Methods**

Bilirubin Total Automated kit was compared with other commercially available methods for measurement of Total Bilirubin. 42 analyses were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was  $Y = 0.9983X - 0.0654$  and the correlation coefficient 0.9955. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

## PRECISION

### Repeatability

The repeatability was calculated from 40 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Repeatability	Sample 1	Sample 2	Sample 3
<b>Average Concentration (mg/dL)</b>	1.24	2.06	0.78
<b>Standard Deviation (mg/dL)</b>	0.02	0.02	0.01
<b>Coefficient of Variation (%)</b>	1.45	0.97	1.69

### Reproducibility

The reproducibility was calculated from 40 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

Reproducibility	Sample 1	Sample 2	Sample 3
<b>Average Concentration (mg/dL)</b>	1.27	2.05	0.80
<b>Standard Deviation (mg/dL)</b>	0.04	0.05	0.03
<b>Coefficient of Variation (%)</b>	3.16	2.50	3.51

## SENSITIVITY

The sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free of Bilirubin Total. The average found was 0.044 mg/dL with a standard deviation of 0.005 mg/dL. The sensitivity, which indicates the method detection limit, correspond the average plus 3 times the standard deviation, is equal to 0.058 mg/dL.

## LINEARITY

The reaction is linear up to the concentration of 30 mg/dL. For higher values dilute the sample with NaCl 0.85% and repeat the dose. Multiply the resulting number by the dilution factor used.

## DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Bilirubin is the result of the degradation of hemoglobin present in red blood cells by the reticuloendothelial system. After the oxidation and reduction process, hemoglobin is transformed into bilirubin, which is conjugated in hepatocytes and eliminated in the intestinal lumen. Total bilirubin is made up of direct bilirubin (which has been conjugated) and indirect bilirubin (not conjugated). Changes in normal bilirubin concentration are strong indicators of hepatobiliary changes and other causes of jaundice.

The hepatobiliary changes can be of origin:

- Prehepatic: resulting from hemolytic processes in which the conjugated fraction of bilirubin exceeds the conjugated fraction.
- Hepatic: occurs due to failure in the process of conjugation of hemoglobin in the hepatocytes in cases of failure in the functioning of these cells.
- Post-hepatic: It occurs due to defects in the elimination of conjugated bilirubin. This is usually due to partial or

total obstruction in the biliary tract.

In cattle, hemolytic anemia caused by anaplasmosis is an important cause of hyperbilirubinemia due to hemolytic anemia caused by this pathogen. Another important cause of the increase in total circulating bilirubin is hepatic lipidosis and copper intoxication.

In the caballos, the elevation of bilirubin can occur for prolonged periods of time, and therefore it can occur secondary to other pathologies when the animal stops feeding. Neonatal isoerythrolysis and pathologies that cause acute hepatitis are common causes of bilirubin elevation in this species.

In dogs and cats, the elevation of bilirubin is associated with hemolytic, inflammatory and infectious liver diseases and biliary obstructions of various causes. In dogs, it is common that the elevation of bilirubin in the blood occurs in an acute way, and that after 2 to 3 days there is a renal compensation between the rhythm of production and excretion of bilirubin, which tends to return the serum concentration normal after this period. Unlike dogs, this compensatory mechanism does not occur in cats and posthepatic hyperbilirubinemia may persist until the cause is eliminated.

## BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998:192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors, Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1125-77.
3. Rand RN, di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin Chem 1962; 6:570-8.
4. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. San Diego: Academic Express, 6. ed., 1998. 936 p.
5. EClínPahth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
6. QUIBASA: Data from Research and Development.

## QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.

### QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Phone.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

## CUSTOMER SERVICE










Customer Advisory Service  
Phone.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

**Registration Number:** Product exempt from registration with the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply.

**Technical Responsible:** Camila Eckstein (CRMV/MG 20.611).

**Review:** June/2025

## UNIVERSAL SYMBOLOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER