

**BILIRRUBINA DIRETA AUTOMAÇÃO**REF **K107****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 Direta 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 Direta, através da reação de acoplamento com a Diclorofenil Diazônio 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 Direta na amostra.

**REAGENTES**

**Número 1 - Tampão** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido Sulfâmico < 200 mmol/L e estabilizantes.

**Número 2 - Reagente de cor** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Diclorofenil Diazônio Tetrafluoroborato < 5 mmol/L e estabilizante.

**APRESENTAÇÃO**

Apresentação	Reagente Nº 1	Reagente Nº 2
K107-1-VET	1 x 40 mL	1 x 10 mL

**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 e transporte 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 Nº 2 deve ser mantido ao abrigo da luz.**

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

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

**5- A calibração deve ser repetida periodicamente para verificar alguma alteração na resposta do colorímetro ou do espectrofotômetro.**

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

**7- 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.**

**8- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha de Dados de Segurança) com de Produtos Químicos) 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.**

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

**10- 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 Direta 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 0800 031 5454.**

**INTERFERENTES**

Hemólise, mesmo que discreta, interfere na dosagem da Bilirrubina. Nenhuma interferência foi observada até 1000 mg/L de Triglicérides. A exposição da amostra à luz pode levar à obtenção de resultados falsamente reduzidos de bilirrubina.

**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 brasileiras de cães, gatos, bovinos e equinos saudáveis, machos e fêmeas, adultos e sem predileção de raça.

Espécie	Valor
Cães	0 - 0,06 mg/dL
Gatos	0 - 0,04 mg/dL
Bovinos	0,02 - 0,07 mg/dL
Equinos	0,13 - 0,547 mg/dL

Estes valores devem ser utilizados 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 determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

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

**DESEMPENHO DO PRODUTO****EXATIDÃO****Comparação de Métodos**

O kit Bilirrubina Direta Automação foi comparado com outros métodos comercialmente disponíveis para dosagem da Bilirrubina Direta. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi  $Y = 1,0228X + 0,0034$  e o coeficiente de correlação 0,9916. 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
Concentração média (mg/dL)	0,42	0,69	0,58
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficiente de Variação (%)	1,50	1,13	2,14

## 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>	0,43	0,70	0,60
<b>Desvio Padrão (mg/dL)</b>	0,01	0,03	0,02
<b>Coefficiente de Variação (%)</b>	1,51	4,75	3,43

## SENSIBILIDADE

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta de Bilirrubina Direta. A média encontrada foi 0,055 mg/dL, com desvio padrão de 0,005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a soma da média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 0,070 mg/dL.

## LINEARIDADE

A reação é linear até a concentração de 12 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85% e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado assim obtido pelo fator de diluição empregado.

## SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A remoção das hemácias no sistema fagocítico mononuclear resulta na liberação da bilirrubina, que é transportada para o fígado onde sofre o processo de conjugação que a torna solúvel em água. A bilirrubina conjugada ou direta é a fração metabolizada que é excretada na bile, o que faz com que a sua concentração sérica e urinária normal seja baixa na maioria das espécies, exceto nos cães, onde é comum ser detectada na urina (em baixas concentrações). Em equinos e bovinos, o jejum prolongado pode promover o aumento fisiológico da bilirrubina com apresentação clínica de icterícia mas sem alteração hepática.

A hemólise é considerada a principal causa do aumento da bilirrubina. Em caso de hemólise severa em curto período de tempo é comum que a bilirrubina predominante seja a indireta. Em pequenos animais e em potros com isoeritrólise neonatal (hemólise por tempo prolongado), é comum a ocorrência de alterações hepatobiliares com acúmulo da bilirrubina direta e indireta. Concentrações elevadas de bilirrubina por período prolongado podem causar kernicterus (ação decorrente da deposição de bilirrubina no sistema nervoso central e que pode causar a morte do animal).

Alterações hepáticas podem ter como consequência o aumento na concentração de bilirrubina direta e indireta, e geralmente, ocorrem simultaneamente com o aumento de outras enzimas como a fosfatase alcalina e GGT.

A colestase, é uma causa importante do aumento da bilirrubina e pode ser caracterizada como intrahepática (alteração diretamente nos hepatócitos) ou extrahepática (ex.: obstrução por neoplasias, cálculos biliares ou por parasitas como a *Fasciola hepatica* em bovinos e equinos). Defeitos anatômicos ou hereditários no processo de conjugação também podem ocorrer e levam ao aumento da concentração de bilirrubina sérica.

## 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. ECLinPanth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
6. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento

## GARANTIA DA 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 0315454 | 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 <N> TESTE



INFLÂMVEL



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  
ESTERILIZADO



CUIDADO



PERIGO

# BILIRRUBINA DIRECTA AUTOMACIÓN

REF K107

## INSTRUCCIONES DE USO

### FINALIDAD

Método para determinación de la Bilirrubina Directa 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

La Bilirrubina Directa, a través de la reacción de acoplamiento con 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 Directa en la muestra.

### REACTIVOS

**Número 1 - Tampón** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Ácido Sulfámico < 200 mmol/L y estabilizantes.

**Número 2 - Reactivo de color** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Diclorofenil Diazonio Tetrafluoroborato < 5 mmol/L y estabilizante.

### PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo Nº 1	Reactivo Nº 2
K107-1-VET	1 x 40 mL	1 x 10 mL

### EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

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

### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento y transporte 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 Nº 2** debe ser mantenido al abrigo de la luz.

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

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

**5- La calibración** debe ser repetida periódicamente para verificar alguna alteración en la respuesta do colorímetro o del espectrofotómetro.

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

**7- Se recomienda** la aplicación de las leyes locales, estatales y federales de protección ambiental para que el desecho de reactivos y materiales biológicos se haga de acuerdo a la legislación vigente.

**8- 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.

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

**10- 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 la -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 Directa 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 prontos 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 em analizadores bioquímicos automáticos. **Verificar la programación para el equipamiento em el site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) o a través del SAC 0800 031 5454.**

### INTERFERENTES

La hemólisis, incluso si es leve, interfiere con la dosificación de Bilirrubina. No se observaron interferencias hasta 1000 mg/L de Triglicéridos. La exposición de la muestra a la luz puede dar lugar a resultados de bilirrubina falsamente reducidos.

### 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 establecieron en muestras de suero de poblaciones sanas de perros, gatos, bovinos y equinos, machos y hembras, adultos y sin predilección racial.

## USO VETERINARIO

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](mailto:sac@bioclin.com.br)

Especies	Valor
Perros	0 - 0,06 mg/dL
Gatos	0 - 0,04 mg/dL
Bovino	0,02 - 0,7 mg/dL
Caballos	0,13 - 0,547 mg/dL

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

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 Métodos

El kit Bilirrubina Directa Automación fue comparado con otros métodos comercialmente disponibles para dosificación de la Bilirrubina Directa. Fueron realizadas 42 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue  $Y = 1,0228X + 0,0034$  y el coeficiente de correlación 0,9916. 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)	0,42	0,69	0,58
Desvío Padrón (mg/dL)	0,01	0,01	0,01
Coefficiente de Variación (%)	1,50	1,13	2,14

## 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
<b>Concentración Promedio (mg/dL)</b>	0,43	0,70	0,60
<b>Desvío Padrón (mg/dL)</b>	0,01	0,03	0,02
<b>Coefficiente de Variación (%)</b>	1,51	4,75	3,43

## SENSIBILIDAD

La sensibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones de en una muestra exenta de Bilirrubina Directa. El promedio encontrado fue 0,055 mg/dL, con desvío patrón de 0,005 mg/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde al promedio más 3 veces el desvío patrón y es igual a 0,070 mg/dL.

## LINEARIDAD

La reacción es lineal hasta la concentración de 12 mg/dL. Para valores superiores, diluir la muestra con solución de NaCl 0,85% y repetir la dosificación. Multiplicar el resultado así obtenido por el factor de dilución empleado.

## SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La eliminación de glóbulos rojos en el sistema fagocítico mononuclear da como resultado la liberación de bilirrubina, que se transporta al hígado donde sufre el proceso de conjugación que la hace soluble en agua. La bilirrubina conjugada o directa es la fracción metabolizada que se excreta en la bilis, lo que hace que su concentración sérica y urinaria normal sea baja en la mayoría de las especies, excepto en perros donde es común detectarla en la orina (en bajas concentraciones). En equinos y bovinos, el ayuno prolongado puede promover un aumento fisiológico de la bilirrubina con presentación clínica de ictericia pero sin cambios hepáticos.

Se considera que la hemólisis es la causa principal del aumento de la bilirrubina. En caso de hemólisis severa en un corto período de tiempo, es común que la bilirrubina predominante sea indirecta. En pequeños animales y en potros con isoeritrolisis neonatal (hemólisis prolongada) es frecuente la aparición de alteraciones hepatobiliares con acumulación de bilirrubina directa e indirecta. Altas concentraciones de bilirrubina por un período prolongado pueden causar kernicterus (acción resultante de la deposición de bilirrubina en el sistema nervioso central que puede causar la muerte del animal).

Los cambios hepáticos pueden resultar en un aumento en la concentración de bilirrubina directa e indirecta, y generalmente ocurren simultáneamente con el aumento de otras enzimas como la fosfatasa alcalina y la GGT. La colestasis es una causa importante de aumento de la bilirrubina y puede caracterizarse como intrahepática (cambio directo en los hepatocitos) o extrahepática (p. ej., obstrucción por neoplasias, cálculos biliares o parásitos como Fasciola hepática en bovinos y equinos). También pueden ocurrir defectos anatómicos o hereditarios en el proceso de conjugación y conducir a un aumento de la concentración de bilirrubina sérica.

## 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. EClinPath. 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 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  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

## ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente  
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: 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

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACION		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 ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

**BILIRUBIN DIRECT AUTOMATED**REF **K107****INSTRUCTIONS FOR USE****FUNCTION**

Method for determination of Direct 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

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

**REAGENTS**

**Number 1 - Buffer** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Sulfamic Acid < 200 mmol/L and stabilizers.

**Number 2 - Color Reagent** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Dichlorophenyl Diazonium Tetrafluoroborate < 5 mmol/L and stabilizer.

**PRESENTATION**

Presentation	Reagent N° 1	Reagent N° 2
K107-1-VET	1 x 40 mL	1 x 10 mL

**EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS**

To perform this technique it is required the biochemistry automated equipment, Biocal kits 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- The reagent N° 2 must be kept protected from light.**
- 3- Water used in material cleaning must be recent and free of contaminants.**
- 4- Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.**
- 5- Calibration must be repeated periodically to verify any alterations in colorimetric responses or spectrophotometer.**
- 6- Hemolysis, even if discreet, interfere in dosage.**
- 7- 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.**
- 8- 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.**
- 9- Do not use the product in case of damaged packaging.**
- 10- 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 Bilurubin Direct 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 Bioclin kit.

This kit is for use in automated biochemical analyzers only. **Check the application sheet for this equipment on the website [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) or through SAC 0800 031 5454.**

**INTERFERENCES**

The hemolysis, even if it is mild, interferes with the dosage of Bilirubin. No interference will be observed up to 1000 mg/L of Triglycerides. Exposing the sample to light may lead to falsely reduced bilirubin 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 monitored 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**

Reference values were established in serum samples from healthy populations of dogs, cats, cattle and horses, males and females, adults and without racial predilection.

Specie	Value
Dog	0 - 0.06 mg/dL
Cat	0 - 0.04 mg/dL
Cattle	0.02 - 0.7 mg/dL
Horse	0.13 - 0.547 mg/dL

**VETERINARY USE**

TO OBTAIN THE INSTRUCTIONS FOR USE IN PRINTED FORMAT, AT NO ADDITIONAL COST, CONTACT CUSTOMER ADVISORY SERVICE:

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

To convert the values to mg/dL to mmol/L (SI), multiply the results obtained by 0.0171.

These values should be used only as a guide. Each laboratory should establish its own reference range, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the veterinary responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

**PRODUCT PERFORMANCE ACCURACY****Comparison of Methods**

Bilirubin Direct Automated kit was compared with other methods for determination of Direct Bilirubin dosage commercially available measurement. 42 analyzes were performed and the results were evaluated. The equation linear obtained was  $Y = 1.0228X + 0.0034$  and the correlation coefficient 0.9916. 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
Average Concentration (mg/dL)	0.42	0.69	0.58
Standard Deviation (mg/dL)	0.01	0.01	0.01
Coefficient of Variation (%)	1.50	1.13	2.14

## 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>	0.43	0.70	0.60
<b>Standard Deviation (mg/dL)</b>	0.01	0.03	0.02
<b>Coefficient of Variation (%)</b>	1.51	4.75	3.43

## SENSITIVITY

The sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free of Direct Bilirubin. The average found was 0.055 mg/dL, with deviation standard of 0.005 mg/dL. The sensitivity, which indicates the method limit detection, corresponds the average plus 3 times the standard deviation, and is equal to 0.070 mg/dL.

## LINEARITY

The reaction is linear to the concentration of 12 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

The elimination of red blood cells in the mononuclear phagocytic system results in the release of bilirubin, which is transported to the liver where it undergoes the conjugation process that is soluble in water. Conjugated or direct bilirubin is the metabolized fraction that is excreted in the bile, what makes its serum concentration and normal urine low in most species, except in dogs where it is common to detect it in the urine (in low concentrations). In horses and cattle, prolonged stay can promote a physiological increase in bilirubin with clinical presentation of jaundice without hepatic changes.

Hemolysis is considered to be the main cause of the increase in bilirubin. In the case of severe hemolysis in a short period of time, it is common that the predominant bilirubin is indirect. In small animals and in foals with neonatal isoerythrolysis (prolonged hemolysis) the appearance of hepatobiliary alterations with direct and indirect bilirubin accumulation is frequent. High concentrations of bilirubin for a prolonged period can cause kernicterus (an action resulting from the deposition of bilirubin in the central nervous system and which can cause death in an animal). Hepatic changes can result in an increase in the concentration of direct and indirect bilirubin, and generally occur simultaneously with an increase in other enzymes such as alkaline phosphatase and GGT.

Cholestasis is an important cause of increased bilirubin and can be characterized as intrahepatic (direct change in hepatocytes) or extrahepatic (eg, obstruction by neoplasms, gallstones or parasites such as Fasciola hepatica in cattle and horses). Anatomical or hereditary defects can also occur in the conjugation process and lead to an increase in the concentration of serum bilirubin.

## 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. EclinPalth. Cornell University College of veterinary Medicine. 2013.
6. QUIBASA: Data from Reseach 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 SYMBOLOGY



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